



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA AGRÍCOLA
POSTGRADO EN BOTÁNICA AGRÍCOLA



**Anatomía caular y de la lámina foliar, y su relación
con algunas variables ecofisiológicas en dos especies
de *Centrosema* (DC.) Benth. (Fabaceae)
sometidas a déficit hídrico**

Ing^a. Agr. María Eugenia González Bravo

Tutora: Damelis Jáuregui

Maracay, Octubre 2017



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA AGRÍCOLA
POSTGRADO EN BOTÁNICA AGRÍCOLA



**Anatomía caular y de la lámina foliar, y su relación
con algunas variables ecofisiológicas en dos especies
de *Centrosema* (DC.) Benth. (Fabaceae)
sometidas a déficit hídrico**

**Trabajo de Grado presentado como requisito final para optar al
título de *Magíster Scientiarum* en Botánica Agrícola**

Ing^a. Agr. María Eugenia González Bravo

Tutora: Damelis Jáuregui

Maracay, Octubre 2017

**Trabajo de Grado presentado como requisito final para optar al
título de *Magíster Scientiarum* en Botánica Agrícola**

Comité Consejero

**Dra. Damelis Jáuregui
Tutora**

**Dr. Orlando Guenni
Asesor**

DEDICATORIA

*A mis padres
A mis seres queridos que ya no están presentes pero que de alguna
forma me dan la energía para continuar luchando*

*Y a todas aquellas personas que son felices con verme
cumplir mis metas...*

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso y a la Virgen del Valle por ser mi guía y protegerme en todo momento.

A mis padres y hermanos por el apoyo incondicional brindado durante el desarrollo y culminación de esta carrera.

A mi Tutora Profesora Damelis Jáuregui, por ser tan excelente profesional, por todo el conocimiento transmitido, su paciencia así como el apoyo prestado durante la realización de mi trabajo de grado.

A la UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA por darme la oportunidad de estudiar y graduarme en tan valiosa casa de estudio. Uhh, Uhh... UCV!!! Uhh, Uhh.... UCV!!!. Porque en ella me siento cada día realizada profesionalmente; haciendo con pasión y entrega, las cosas que más disfruto hacer *Estudiar e Investigar*. “Lo más importante es no dejarnos vencer por las sombras”

Al Profesor Orlando Guenni por su apoyo en la elaboración de este trabajo.

A Norbelys de Benítez por su ayuda en el procesamiento del material vegetal.

Al Ing. Carlos Marín por la ayuda prestada en el procesamiento estadístico de los resultados.

A mi tía Nila por apoyarme y sobre todo por ser tan excelente profesional.
ERES UN EJEMPLO A SEGUIR!

A mis amigos quienes con entusiasmo me apoyaron en todo momento para alcanzar esta meta.

.....**GRACIAS!**

RESUMEN

El déficit hídrico como un elemento generador de estrés, es uno de los principales factores abióticos que limitan el crecimiento y la productividad vegetal. El desarrollo de las plantas en condiciones de sequía puede variar entre especies de un mismo género, debido a que éstas pueden manifestar distintas respuestas ante dichas condiciones, aun cuando coexistan en el mismo hábitat. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar la anatomía caulinar y de la lámina foliar en *Centrosema macrocarpum* y *C. molle* sometidas a déficit hídrico, asociando cambios estructurales con algunos procesos fisiológicos que incrementen su tolerancia a la sequía. El muestreo se efectuó en 16 parcelas que se encontraban establecidas en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones, ocho parcelas para cada especie, las cuales fueron sometidas a dos tratamientos, con riego y sin riego. Se tomaron muestras de hoja y tallo y se preservaron en FAA. Se prepararon láminas con cortes transversales, macerados totales y parciales. Todas las preparaciones se estudiaron bajo un microscopio óptico calibrado, equipado con un ocular micrométrico, que se usó para la estimación de las variables anatómicas cuantitativas. La información generada fue relacionada con datos de contenido relativo de agua, potencial hídrico, área foliar específica y conductividad hidráulica teórica obtenidos previamente en el caso de las tres primeras variables, y del cálculo de la última, usando la fórmula propuesta en la literatura. El déficit hídrico produjo cambios en la anatomía foliar, siendo significativas el grosor de la epidermis adaxial y del parénquima esponjoso, y la densidad de tricomas en la epidermis abaxial de *C. macrocarpum* y, solo la densidad de estomas de la epidermis adaxial de *C. molle*. El estudio caulinar *C. molle* y *C. macrocarpum* mostró modificaciones anatómicas en los elementos del vaso, los cuales disminuyeron su diámetro y longitud, aumentaron su densidad y mostraron tendencia a agruparse y a modificar los engrosamientos a nivel de sus paredes celulares para mejorar la conducción de agua. El comportamiento de estas especies, permite confirmar su relativa resistencia al estrés, mediante la combinación de mecanismos de evasión y tolerancia.

Palabras Claves: *Centrosema*, déficit hídrico, anatomía, tallo y lámina foliar.

ABSTRACT

Water deficit as a stress-generating element is one of the main abiotic factors limiting plant growth and productivity. The development of plants under drought conditions can vary between species of the same genus, because they can manifest different responses to these conditions, even when they coexist in the same habitat. The objective of this work was to study the caulinar and foliar anatomy of *Centrosema macrocarpum* and *C. molle* submitted to water deficit, associating structural changes with some physiological processes that increase their tolerance to drought. Sampling was carried out in 16 plots that were established in a randomized block design with four replications, eight plots for each species, which were submitted to two treatments, with irrigation and without irrigation. Samples of leaf and stem were taken and preserved in FAA. Sheets were prepared with cross sections, total and partial macerated. All preparations were studied under a calibrated optical microscope, equipped with a micrometric eyepiece, which was used for the estimation of quantitative anatomical variables. The information generated was related to data of relative water content, water potential, specific leaf area and theoretical hydraulic conductivity previously obtained in the case of the first three variables, and the calculation of the last one, using the formula proposed in the literature. The water deficit produced changes in the leaf anatomy, with the thickness of the adaxial epidermis and the spongy parenchyma, and the density of trichomes in the abaxial epidermis of *C. macrocarpum* and only the stomata of the adaxial epidermis of *C. Molle*. The study of *C. molle* and *C. macrocarpum* showed anatomical modifications in the elements of the vessel, which diminished its diameter and length, increased its density and showed a tendency to group and modify the thickenings at the level of its cellular walls to improve the conduction of Water. The behavior of these species, confirms their relative resistance to stress, through the combination of evasion and tolerance mechanisms.

Key Words: *Centrosema*, water stress, legumes, anatomy, stem, foliar leaf.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
TABLA DE CONTENIDO	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
REVISION BIBLIOGRÁFICA	5
1. GENERALIDADES SOBRE EL GENERO <i>CENTROSEMA</i>	5
1.1. Taxonomía	5
1.2. Características Botánicas	5
1.3. Origen, distribución y potencial agronómico	6
1.4. Valor nutricional en la alimentación animal	7
2. RESPUESTA DE LAS PLANTAS AL DÉFICIT HÍDRICO	8
2.1. Cambios morfoanatómicos producidos por déficit hídrico en las plantas	13
2.1.1. Hoja	13
2.1.2. Tallo	21
2.1.2.1. Índice de vulnerabilidad y mesomorfía	24
2.1.2.2. Conductividad hidráulica	26
2.2. Variables ecofisiológicas indicadoras de estrés hídrico en las plantas	28
2.2.1. Contenido relativo de agua (CRA)	28
2.2.2. Potencial hídrico	29
MATERIALES Y MÉTODOS	32
Material vegetal	32
Descripción del ensayo	32
Muestreo y preservación del material recolectado	32

Procesamiento del material vegetal	33
Observaciones y análisis	34
Análisis Estadístico	35
RESULTADOS	37
1. Hoja	37
2. Tallo	44
2.1. Espesor de la corteza, de los tejidos vasculares y diámetro de la médula	46
2.2. Características de los elementos de los vasos	47
2.3. Índice de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM)	51
3. Análisis de componentes principales	51
4. Variables ecofisiológicas	53
DISCUSIÓN	55
1. Hoja	55
2. Tallo	60
3. Relación entre las características de la anatomía caulinar y foliar con variables ecofisiológicas, y su contribución a la aclimatación al déficit hídrico	64
CONCLUSIONES	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Secciones transversales de la lámina foliar de dos especies de <i>Centrosema</i> .	38
Fig. 2. Epidermis foliar de <i>Centrosema macrocarpum</i> (vistas paradérmicas).	38
Fig. 3. Epidermis foliar de <i>Centrosema molle</i> (vistas paradérmicas).	39
Fig. 4. Espesor de las epidermis adaxial y abaxial más cutícula en folíolos de <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos, con riego (CR) y sin riego (SR).	40
Fig. 5. Secciones transversales de la lámina foliar en dos especies de <i>Centrosema</i> , sometidas a estrés hídrico.	40
Fig. 6. Densidad de estomas en las epidermis adaxial y abaxial de <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	41
Fig. 7. Densidad de tricomas en las epidermis adaxial y abaxial para las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	41
Fig. 8. Espesor de la lámina foliar en las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	42
Fig. 9. Espesor del mesofilo en las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	43
Fig. 10. Espesor del parénquima en empalizada y esponjoso en las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	43
Fig. 11. Secciones transversales de la lámina foliar en dos especies de <i>Centrosema</i> , sometidas a estrés hídrico.	44
Fig. 12. Secciones transversales del tallo de <i>Centrosema macrocarpum</i> .	45
Fig. 13. Secciones transversales del tallo de <i>Centrosema molle</i> .	45

	Página
Fig. 14. Espesor de la corteza, de los tejidos vasculares y diámetro de la médula en tallos de las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	46
Fig. 15. Diámetro de los vasos en tallos de las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función del tratamiento de riego, con riego (CR) y sin riego (SR).	47
Fig. 16. Longitud de los vasos en tallos de las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	48
Fig. 17. Densidad de vasos en las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos, con riego (CR) y sin riego (SR).	48
Fig. 18. Proporción de los elementos del vaso con diferentes tipos de engrosamiento en sus paredes, en los tallos de las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	49
Fig. 19. Tipo de engrosamiento en las paredes de los elementos del vaso, en tallos de <i>Centrosema macrocarpum</i> .	50
Fig. 20. Elementos del vaso en <i>Centrosema molle</i> .	50
Fig. 21. Análisis de componentes principales en hoja y tallo de las especies <i>C. macrocarpum</i> (Cmac) y <i>C. molle</i> (Cmol) en función del tratamiento de riego, con riego (CR) y sin riego (SR).	53

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Valores promedio de las variables epidérmicas foliares de <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> con riego (CR) y sin riego (SR).	39
Cuadro 2. Valores promedio de las variables anatómicas foliares de <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> con riego (CR) y sin riego (SR)	42
Cuadro 3. Valores promedio de algunas variables anatómicas del tallo de <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	47
Cuadro 4. Valores promedio de algunas variables anatómicas del xilema secundario en tallos de <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	47
Cuadro 5. Proporción de tipos de engrosamientos presentes en los elementos del vaso de las especies <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	49
Cuadro 6. Índices de vulnerabilidad y mesomorfía en tallos de <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	51
Cuadro 7. Matriz de coeficientes y contribuciones de las variables en los dos componentes principales seleccionados en el estudio de caracteres anatómicos en las dos especies de <i>Centrosema</i> .	52
Cuadro 8. Valores promedio del área foliar en <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	53
Cuadro 9. Valores promedio de la conductividad hidráulica teórica del tallo en <i>C. macrocarpum</i> y <i>C. molle</i> sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).	54

INTRODUCCIÓN

La importancia de las leguminosas forrajeras se manifiesta cada vez más, no solo en su capacidad para mejorar la producción animal, sino también en el gran potencial que tienen para contribuir a la sostenibilidad de los sistemas integrados de producción agropecuaria (Schultze-Kraft *et al.*, 1997). Estas plantas ofrecen singulares ventajas, debido, entre otras cosas, a su capacidad de fijación de nitrógeno, a su aporte de materia seca de buena calidad y a su oferta de material vegetal en la época crítica (Luzardo, 1986).

Algunas especies de *Centrosema* (DC.) Benth. han alcanzado en distinto grado, importancia económica en las regiones tropicales, donde son utilizadas como leguminosas forrajeras en pasturas o como cultivos de cobertura en plantaciones arbóreas. El valor nutritivo de las especies de *Centrosema* es tan alto como el de otras leguminosas forrajeras tropicales de importancia económica, ofreciendo al ganado un forraje de alta calidad, además de ayudar en la prevención de la erosión, el control de malezas y al aumento de la fertilidad del suelo. Dicho género, incluye especies con adaptación potencial a diversos hábitats como las regiones tropicales secas, zonas de gran altitud, condiciones de mal drenaje o inundación estacional y a los suelos ácidos de poca fertilidad (Schultze-Kraft *et al.*, 1997).

Las plantas en general, están influenciadas por el microclima, pudiendo adaptarse a diferentes temperaturas, radiación, disponibilidad de agua, entre otros factores (Roth, 1976). Las mismas pueden ajustarse a lo largo de su ciclo de vida a situaciones adversas para su desarrollo, lo que se conoce como estrés. La comprensión de los procesos fisiológicos, así como de los mecanismos de adaptación y aclimatación de las plantas a un estrés ambiental son de gran importancia tanto para la agricultura como para el medio ambiente (Lincoln & Zeiger, 2006). El déficit hídrico como un elemento generador de estrés, es uno de los principales factores abióticos que limitan el crecimiento y la productividad vegetal (Wullschleger *et al.*, 2002). El desarrollo de las plantas en condiciones de déficit hídrico puede variar entre especies de un mismo género, debido a que

éstas pueden manifestar distintas respuestas fisiológicas ante dichas condiciones, aun cuando coexistan en el mismo hábitat (Colombo *et al.*, 2007).

Se considera a la sequía como un evento ambiental y meteorológico, y se define como la ausencia de lluvia durante un tiempo suficientemente largo como para causar carencia de humedad en el suelo y daño en las plantas (Kramer, 1980).

Los ecosistemas de sabana en el país presentan dos períodos climáticos bien marcados, que son lluvias y sequía. En los llanos venezolanos, tradicionalmente utilizados para la producción animal, la temporada de sequía tiene como principal característica la baja disponibilidad de recursos forrajeros tanto en cantidad como en calidad. Adicionalmente, se presentan fuertes limitantes edáficas como son: la baja fertilidad, altas temperaturas y acidez. Esta situación, puede ser compensada con la introducción de leguminosas forrajeras, que tengan buena adaptación a periodos de sequía, y que además pueden aumentar tanto el contenido de materia orgánica en el suelo, como de nitrógeno en el pastizal, a través de la fijación biológica (Tam, 2006).

La sequía puede manifestarse en períodos cortos o extensos, induciendo cambios fisiológicos y morfo-anatómicos en las plantas. Dichos cambios permiten mantener la productividad y/o supervivencia a mediano y largo plazo (Kramer, 1980; Ludlow, 1989; Chaves *et al.*, 2003). El grado de severidad y duración del período de estrés, conlleva a un ajuste o control en el tiempo de la secuencia de eventos que traducen la respuesta bioquímica en respuestas de crecimiento, morfológicas y fisiológicas (Ascencio, 2005).

Como respuesta al estrés hídrico se detiene el desarrollo de la planta, hay marchitamiento de las hojas, reducción del potencial hídrico, de la conductancia estomática y de la asimilación de CO₂ (Vélez *et al.*, 2012). Se señala que en las plantas sometidas a déficit hídrico se puede presentar un aumento en el grosor de la cutícula, en la densidad de tricomas y una reducción en el tamaño de las hojas (Lindorf *et al.*, 1991). Además, se señala que tejidos expuestos a baja disponibilidad de agua muestran generalmente una reducción en el tamaño de las

células, incremento del tejido vascular y del grosor de las paredes celulares (Guerfel *et al.*, 2009). Ante condiciones de estrés hídrico severo, los cítricos específicamente naranjo y tangor, desarrollaron mecanismos de “ajuste elástico”; esto último, consiste en el aumento de la elasticidad de las paredes celulares con el objeto de mantener la turgencia celular, lo que facilita al igual que en el ajuste osmótico, la continuidad de procesos esenciales como la utilización de nutrientes y asimilados (Huang *et al.*, 2000), la fotosíntesis y por lo tanto el crecimiento en general (Savé *et al.*, 1995).

La tolerancia a la sequía está determinada, en parte, por factores relacionados con la conducción de agua en el interior de la planta (Tyree & Zimmermann, 2002). En condiciones de déficit hídrico fuerte se han encontrado modificaciones de la conductividad hidráulica no solo en el tallo sino también en la raíz (Peterlunger *et al.*, 2000). En tales casos, la restricción al paso de agua puede producirse por reducción del diámetro de los vasos del xilema para evitar la cavitación (Salleo *et al.*, 1985).

El comportamiento de *Centrosema* ante condiciones de déficit hídrico no ha recibido suficiente atención, por lo que la información relacionada con las respuestas de este género a las condiciones de limitación del agua es relativamente escasa en la literatura. Sin embargo, se pueden mencionar los trabajos realizados por Ludlow *et al.* (1983), Fisher & Ludlow (1984), Clements (1990), Molina *et al.* (2009), Guenni *et al.* (2006) y Guenni *et al.* (2007), cuya información se muestra más adelante.

Este trabajo pretende aportar información sobre la respuesta integral ante la sequía de dos especies importantes de *Centrosema*, asociando la anatomía caulinar y de la lámina foliar con algunas variables fisiológicas vinculadas al estrés hídrico. La información aportada en el presente estudio podría ser útil para un manejo agronómico adecuado, y en el establecimiento de programas de mejoramiento genético; favoreciendo así, el uso más eficiente de estas leguminosas como plantas forrajeras, buscando incrementar su productividad, particularmente bajo condiciones de humedad limitante.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Estudiar la anatomía caular y de la lámina foliar en *Centrosema macrocarpum* y *C. molle* cuando son sometidas a déficit hídrico, de manera de asociar cambios estructurales con algunos procesos fisiológicos que incrementen su tolerancia a la sequía.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Describir la anatomía caular y de la lámina foliar de dos especies de *Centrosema* sometidas a condiciones de déficit hídrico.
- ✓ Comparar la anatomía de la lámina foliar y caular de las dos especies de *Centrosema* sometidas a déficit hídrico.
- ✓ Relacionar las características de la anatomía caular y foliar de dos especies de *Centrosema* influenciadas por el déficit hídrico con variables ecofisiológicas asociadas con tolerancia a la sequía.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. GENERALIDADES SOBRE EL GÉNERO *CENTROSEMA*

1.1. Taxonomía

Centrosema es un género constituido por 97 especies, perteneciente a la familia Fabaceae, orden Fabales. Este género es un miembro de la tribu Phaseoleae, una de las más grandes de las leguminosas y de las que posee mayor diversidad. Sus especies crecen en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, pero está mejor representado en el continente Americano (Williams & Clements, 1997). A continuación, se describen en detalle las dos especies de *Centrosema* a utilizar en este estudio.

1.2. Características botánicas

Centrosema molle (Fantz, 2001):

Hierba perenne, trepadora voluble. Tallos: Delgados, un poco angulares, escasamente pilosos. Hojas: Trifoliadas, con folíolos ovado-elípticos, elípticos a elíptico-oblongos, de 3,5 a 10 cm de largo por 1,5 a 5,5 cm de ancho, ápice ampliamente agudo a cortamente acuminado, base redondeada, tomentoso-pilosos con pelos delgados a casi sin ellos en el envés, peciólulos de 2 a 3 mm de largo, estípelas de 2 a 4 mm de largo; pecíolos de 2,5 a 5 cm de largo, estípulas de 2 a 3 mm de largo. Inflorescencias: Axilares, solitarias, hasta de 7 cm de largo, con pocas flores. Flores: 2 a 3,5 cm de largo; tubo del cáliz de 3 a 5 mm de largo, con escasos pelos, los dientes superiores y laterales de 2 a 4 mm de largo, los dorsales fusionados por abajo, el ventral de 5 a 9 mm de largo, conspicuamente proyectado hacia los lados de las bractéolas; estandarte seríceo por fuera, blanco con nervios purpúreos, amarillento opaco cuando marchito, alas cerca de 20 a 22 mm de largo con la uña de 4 a 6 mm de largo, aurículas de 2,5 a 3 mm de largo, quilla de 20 a 22 mm de largo con la uña de 4 a 6 mm de largo; tubo de los estambres de 26 a 29 mm de largo, filamentos libres de 3 a 5 mm de largo, el estambre vexilar (1 estambre casi libre del tubo) fusionado basalmente, de 5 a 7 mm de largo. Frutos y semillas: Fruto una legumbre, de 10 a 13,5 cm de largo por

6 a 7 mm de ancho, casi sin pelos, café-purpúreo; semillas en forma de riñón, de 3 a 3,5 mm de largo por 4 mm de ancho, café oscuro con motas negras irregulares.

Centrosema macrocarpum (Schultze-Kraft & Belalcazar, 1995):

Bejuco herbáceo. Tallos: Herbáceos a leñosos, ligeramente angulosos, 2-15mm de diámetro, con pubescencia serícea abundante en los tallos jóvenes. Hojas: Trifoliadas, con folíolos oblongo-elípticos, de 5,5 a 17,1 cm de largo por 2,2 a 9,5 cm de ancho, ápice acuminado a cuspidado, base obtusa a redondeada, margen entero; peciólulos de 3-7 mm de largo, densamente seríceo-pubescentes. Inflorescencias: Axilares, en racimos compuestos. Flores: Cáliz subcoriáceo, gamosépalo, campanulado, viscoso-piloso, 10 mm de largo y 5 mm de ancho. Corola grande, morada-violácea, con vértice amarillo-verdoso, estandarte vistoso blanco-agrisado, 3-4 cm de largo y 2,4 cm de ancho, glabro en la cara interna, seríceo-pubescente en la cara externa; espolón bien definido, agudo-conoide; alas rodeando lateralmente la quilla, seríceas-pubescentes en su base; quilla encerrando los órganos reproductivos, seríceo-pubescente y viscosa en la cara externa. Tubo estaminal membranoso, 4 cm de largo, cubriendo el gineceo; filamento vexilar libre 2-2,8 cm de largo, glabro; anteras dorsifijas, aplanadas, elípticas a redondeadas. Estilo y estigma membranáceos de 4 cm de largo; estilo filiforme, densamente seríceo-piloso hasta cerca del estigma; estigma espatulado, 2 mm de ancho. Frutos y semillas: Fruto una legumbre lineal a falcada, aplanada, de 16 a 35 cm de largo por 9 a 12 mm de ancho, subglabra; semillas separadas por septas, ablongo-ovoides, aplanadas, 9-11 mm de largo, 5-6 mm de ancho, amarillas con líneas irregulares, moradas.

1.3. Origen, distribución y potencial agronómico

Centrosema es originario de América y África. *Centrosema macrocarpum*, se distribuye entre latitudes de 19° S y 19° N y es particularmente frecuente desde el norte de Brasil, Venezuela, Colombia y todos los países de América Central hasta el norte de México, pero también ha sido introducida en países tropicales de otros continentes; crece en ambientes subhúmedos, en bordes de bosques de galería, en ecosistemas de sabana. Por otra parte, *C. molle* se encuentra frecuentemente

en el norte de América del Sur, en América Central y en el Caribe, crece en zonas de alta precipitación, también puede encontrarse en ambientes secos (Schultze-Kraft *et al.*, 1997); es importante destacar que esta especie se consideraba anteriormente como *C. pubescens*, nombre que actualmente forma parte de la sinonimia (Schultze-Kraft, 2003). En Venezuela, ambas especies están distribuidas en gran parte del territorio nacional, *C. macrocarpum* ha sido reportada en 18 estados y *C. molle* en 21 estados (Barreto, 1986; Molina *et al.*, 2009).

Para evaluar el potencial agronómico de una leguminosa forrajera se deben considerar algunas características importantes como: producción de materia seca, potencial de producción de semilla, tolerancia a estrés biótico y abiótico, comportamiento durante la estación seca, valor nutritivo, entre otros. *C. macrocarpum* tiene un potencial agronómico alto. Esta especie se considera promisoría para una amplia variedad de condiciones ecológicas en las zonas tropicales. Su crecimiento vigoroso y comportamiento excelente durante la estación seca, su alto valor nutritivo y su tolerancia a enfermedades se consideran características especialmente valiosas. Las principales limitantes son la escasez de floración y formación de semilla en algunas localidades y una falta de persistencia bajo pastoreo. *C. molle* tiene un potencial agronómico intermedio. Se considera, en general, intolerante a suelos ácidos, muestra susceptibilidad a las enfermedades, especialmente a la mancha foliar de *Cercospora* y a la antracnosis (Schultze-Kraft *et al.*, 1997).

1.4. Valor nutritivo en la alimentación animal

Existe una variación en la calidad del forraje, tanto entre las especies de *Centrosema* como dentro de ellas, en su contenido de proteína, digestibilidad y palatabilidad. Al parecer estas especies no contienen componentes que como los taninos, limiten la calidad del forraje a niveles que reduzcan significativamente la digestibilidad o que afecten la aceptabilidad de la planta por el animal. *C. molle* tiene generalmente un alto contenido de proteína cruda (17 a 25%), pero su digestibilidad es intermedia (50 a 55%). En cuanto a *C. macrocarpum*, tiene altos

niveles de proteína (30%) y una alta digestibilidad (66%) especialmente cuando se compara con leguminosas que contienen taninos (Schultze-Kraft *et al.*, 1997).

2. RESPUESTA DE LAS PLANTAS AL DÉFICIT HÍDRICO

Las plantas están sometidas durante su ciclo de vida a factores estresantes del medio ambiente, impuestos por otros organismos vivos o por un exceso o un déficit en el ambiente físico o químico. Entre los factores abióticos están excesos o déficits de agua, altas o bajas temperaturas, salinidad del suelo, suplenia inadecuada de nutrimentos minerales y demasiada o muy poca luz. La tolerancia o la sensibilidad al estrés va a depender de la especie, del genotipo y del estado de desarrollo de la planta (Buchanan *et al.*, 2000).

Las respuestas de las plantas al ambiente son muy diversas y tienen lugar a nivel molecular, celular, morfológico y fisiológico; las mismas son controladas por procesos de señalización y regularización complejos (Ascencio, 2005).

La plasticidad fenotípica es una de las expresiones más comunes de reacción de la planta ante un estrés (especialmente abiótico), y se produce como resultado de una interacción entre la parte aérea (vástago) y las raíces mediante un complicado sistema de transmisión de señales endógenas (Ascencio, 2005). Asimismo, se ha indicado que es la capacidad de una especie de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente. Si bien la plasticidad fenotípica puede simplemente describir cambios morfológicos y fisiológicos de los individuos, resulta de mayor interés estudiar el valor adaptativo potencial de dichos cambios, ya que es un fenómeno que se da en una escala ecológica y sus consecuencias a este nivel son evidentes, como el aumento de la tolerancia a hábitats extremos (Gianoli, 2004).

Los diferentes tipos de estrés abiótico, generan un amplio rango de respuestas en las plantas que van desde alteraciones en la expresión genética y metabolismo celular hasta cambios en el crecimiento y desarrollo. Existe una gran variedad de factores que determinan la forma en la que las plantas responden al estrés abiótico, entre ellas el genotipo y las condiciones en las que se produce el

crecimiento y desarrollo de las mismas; la respuesta en ellas está determinada por la severidad y la duración del factor estresante, el número de veces de exposición al factor y la fase de crecimiento de la planta en la cual se presenta el estrés (Ascencio, 2005).

La falta de agua o déficit hídrico en el suelo constituye un factor de estrés que actúa sobre las plantas, produciendo tres tipos de respuesta: aquellas que no enfrentan la sequía (mecanismos de escape), las que evitan o previenen la tensión (mecanismo de evasión) y las que soportan o resisten el estrés (mecanismos de tolerancia). En las plantas, las respuestas para afrontar esta situación, han sido denominadas estrategias, y son características de cada especie (Larcher, 1995). Tanto en gramíneas como leguminosas forrajeras tropicales, ocurren mecanismos de evasión y tolerancia a la sequía (Baruch & Fisher, 1991; Guenni *et al.*, 2004; Guenni *et al.*, 2007).

Las plantas pueden tolerar la sequía utilizando varios mecanismos. Algunos de ellos están integrados a la constitución génica de la planta, es decir forman parte de su genotipo, por lo que constituyen adaptaciones evolutivas que se produjeron para mejorar el acondicionamiento de una población de organismos al medio ambiente. Por lo tanto, se encuentran presentes aún en ausencia del factor estresante, y se activan en forma natural ante la exposición a dicho factor (Ascencio, 2005).

Por otra parte, hay autores que agrupan los mecanismos de respuesta al estrés hídrico en tres categorías, aun cuando no existe una clara distinción entre las mismas (Ludlow, 1980; Fisher & Ludlow, 1984; Azcón-Bieto & Talón, 2008):

- Mecanismos de escape
- Escape a la sequía: en general las plantas que poseen este mecanismo no son resistentes a la sequía. Su supervivencia durante los períodos secos solo requiere la producción, debidamente programada de semillas u órganos especialmente protegidos de la desecación. En general estas especies manifiestan una alta plasticidad fenotípica a lo largo de su ciclo de vida.

- Mecanismo de evasión

- Conservación del agua: la forma más común de regular el equilibrio hídrico y mantener la turgencia es reducir la pérdida de agua o almacenarla. Esto se logra por vías diferentes, entre las cuales se pueden mencionar: cierre estomático rápido y completo, cutícula gruesa, pérdida de hojas y almacenamiento de agua en tejidos u órganos.

- Mantenimiento de la absorción de agua: muchas plantas que sobreviven en hábitat secos dependen del desarrollo de un sistema radical profundo y extenso, que puede obtener agua de un volumen más grande del suelo o de una capa freática profunda. El déficit hídrico conlleva a grandes aumentos en la relación biomasa radical/biomasa aérea.

- Mecanismos de tolerancia

- Tolerancia a la desecación: es la capacidad del protoplasma para soportar una gran pérdida de agua, es una característica adaptativa y propia de algunas especies de zonas áridas/desérticas. El déficit hídrico provoca una pérdida progresiva de la turgencia protoplasmática y un aumento en la concentración de solutos. El resultado final de estos dos efectos es la alteración en la función celular y la aparición de lesiones en las estructuras protoplasmáticas (en especial las membranas). En algunas especies, las enzimas, las membranas celulares y los pigmentos fotosintéticos se mantienen indemnes en el estado disecado, en otras, se pierden algunas de ellas, pero son reparadas o resintetizadas tras la hidratación.

- Mantenimiento de la turgencia: Con el proceso de ajuste osmótico las plantas disminuyen su potencial osmótico celular mediante la acumulación activa de solutos, especialmente de iones inorgánicos como K^+ y Cl^- y solutos orgánicos cargados eléctricamente que se acumulan en la vacuola; igualmente, en el citoplasma se sintetizan y acumulan moléculas orgánicas sin carga específica, que no parece que afecten a las funciones de las proteínas. El ajuste osmótico ayuda al movimiento de agua hacia el interior de la célula manteniendo su turgencia (Babu *et al.*, 1999; Hoekstra *et al.*, 2001). Como resultado del ajuste osmótico, algunos cultivos y plantas forrajeras pueden absorber agua a potenciales hídricos

del suelo bajos y mantener la presión de turgor y la actividad fisiológica relacionada al contenido hídrico en los tejidos (Hsiao *et al.*, 1973)

En una situación de estrés muy intenso y prolongando, la pérdida de agua provoca la marchitez de la planta. A nivel celular esto se traduce en una pérdida de turgencia en el interior de la célula; la falta de agua produce alteraciones en la fluidez y composición de la bicapa lipídica de las membranas, lo cual conlleva a reducir su capacidad de intercambio con el exterior (Hoekstra *et al.*, 2001).

Normalmente, a medida que el contenido de agua de la planta disminuye, las células se encogen y las paredes celulares se relajan, dependiendo del grado de elasticidad de estas últimas. Esta reducción en el volumen da lugar a una menor presión de turgencia y a la consiguiente concentración de solutos en las células. Como la pérdida de la turgencia es el primer efecto biofísico significativo al estrés hídrico, las actividades que dependen de la turgencia como la expansión foliar y el alargamiento radicular son las más sensibles a las deficiencias hídricas. La expansión celular es un proceso inducido por la turgencia y es extremadamente sensible al déficit hídrico. Un descenso de la turgencia provoca una disminución de la tasa de crecimiento (Lincoln & Zeiger, 2006).

Entre las leguminosas forrajeras, las especies *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urb. y probablemente *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. manifiestan una rápida penetración radical, movimientos paraheliotrópicos en las hojas y disminución del tamaño de las mismas, y un control estomático temprano como mecanismos de evasión ante el déficit hídrico (Fisher & Ludlow, 1982; Pereira-Netto *et al.*, 1999). El postergar la deshidratación viene ligado a un mayor uso de los productos de la fotosíntesis en la producción de raíces, pero al mismo tiempo con una mayor sensibilidad de las hojas a la desecación. En el caso de *M. atropurpureum*, sus estomas cierran a potenciales hídricos foliares relativamente altos (- 1,9 MPa), por lo que su tolerancia al déficit hídrico es baja (Ludlow, 1980; Ludlow & Ibaraki, 1979; Ludlow *et al.*, 1983). En definitiva, estas especies se defolían en condiciones de sequía prolongada, lo cual constituye el mecanismo

más efectivo para evadir el déficit hídrico en ambientes relativamente secos (Sheriff & Ludlow, 1984; Skerman *et al*, 1991).

Centrosema pascuorum Mart. ex Benth., *Stylosanthes humilis* Kunth. y *Centrosema schottii* (Millsp) K. Schum. constituyen algunos ejemplos de especies que presentan mecanismo de escape y evasión a la sequía durante el período de crecimiento activo (Fisher & Ludlow, 1984; Clements, 1990). No obstante, en *C. pascuorum* se ha observado una alta tolerancia al déficit hídrico del suelo, alcanzando las hojas potenciales hídricos de hasta -12 MPa antes de morir la planta, en contraste con valores de $-2,4$ y $-6,5$ MPa para *M. atropurpureum* y *S. humilis*, respectivamente. Esta alta tolerancia a la deshidratación ha sido asociada con la presencia de ajuste osmótico, aunque moderado en comparación con el observado en otras especies forrajeras tolerantes a la sequía (Ludlow *et al.*, 1983; Fisher & Ludlow, 1984). La ventaja ecológica de poseer estos mecanismos en una especie anual radica en que éstos le permitirían a la planta completar su ciclo reproductivo en ambientes donde las precipitaciones son muy variables tanto a comienzos como a finales del período de crecimiento (Ludlow *et al.*, 1983).

En *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., *C. brasilianum* y *C. molle* se ha observado que en condiciones de déficit hídrico moderado, las mismas presentan tasas transpiratorias bajas. Esto sugiere que dichas especies están adaptadas a condiciones de déficit hídrico por ejercer un mayor control en la variación del contenido hídrico foliar, traduciéndose esto en una mayor eficiencia en el uso del agua (Batista *et al.*, 1983).

Al parecer *Centrosema brasilianum* (L.) Benth., presenta una combinación de mecanismos de evasión y tolerancia a la sequía. Su capacidad para mantenerse verde y crecer lentamente durante la sequía es parcialmente explicada por su mayor control en el cierre estomático, en comparación con *C. pascuorum* y otras especies estudiadas dentro del género (Ludlow *et al.*, 1983). Sin embargo, este tipo de control en la pérdida de agua es todavía menor que en *M. atropurpureum*, mientras que su ajuste osmótico y tolerancia a la deshidratación es similar o menor que en *C. molle* y *C. pascuorum*; por lo que se postula que su follaje puede

permanecer verde durante un tiempo más prolongado (Ludlow *et al.*, 1983) debido quizás también a una mayor penetración radical (Clements, 1990).

En estudios realizados por Guenni *et al.* (2007) las especies *Desmodium incanum* DC., *Stylosanthes scabra* Vogel., *Stylosanthes capitata* Vogel., *Centrosema molle*, *Centrosema brasilianum* y *Centrosema macrocarpum* mostraron una marcada aclimatación a la sequía, lo que estaría probablemente asociado a una eficiente utilización de la humedad en el perfil de suelo, y en algunos casos a una mayor sensibilidad en el cierre estomático. Adicionalmente, estos autores postulan que el ajuste osmótico pudiera representar en estas especies un mecanismo de tolerancia efectivo para soportar el déficit hídrico del suelo en los períodos de sequía más intensos.

2.1. Cambios morfoanatómicos producidos por déficit hídrico en las plantas

Todos los órganos de las plantas pueden ser afectados por estrés hídrico en mayor o menor proporción, pudiendo visualizarse como ya se ha indicado, cambios de diversa índole. A continuación se presentan algunos de los cambios observados en los órganos que se estudiarán en esta investigación: hojas y tallos, abordando algunas variables ecofisiológicas y anatómicas afectadas por el estrés hídrico.

2.1.1. Hoja

Las hojas son órganos especializados en interceptar la luz necesaria para la actividad fotosintética, la cual es capturada por los cloroplastos; ello se complementa con el abastecimiento de agua por parte de los haces vasculares y la toma de CO₂ a través de los estomas, los cuales son capaces de modificar rápidamente su grado de apertura (Lambers *et al.*, 1998). De todos los órganos de la planta, las hojas son los más flexibles para responder a las condiciones del medio ambiente; en éstas, los efectos de estrés por condiciones limitantes o heterogeneidad espacial, se reflejan más que en el tallo o la raíz (Cañizares *et al.*, 2003). El déficit hídrico en las plantas no solo obedece a un suministro de agua escaso, sino que también puede ocurrir donde el agua por alguna razón no puede

ser incorporada fácilmente por la planta, por ejemplo suelos con alto contenido de sales, o con muy bajas temperaturas como en los páramos (Lindorf *et al.*, 1991).

Cuando el déficit hídrico se desarrolla lentamente, se dan cambios en procesos de desarrollo que tienen varios efectos sobre el crecimiento. Uno de principal importancia es la reducción de la expansión foliar. El área foliar es importante, pues de ella depende la captura de radiación solar por la planta, aunque una rápida expansión foliar puede afectar negativamente la adaptación a la poca disponibilidad de agua (Potters *et al.*, 2007). Durante la deshidratación también se producen cambios en el ángulo de inclinación de las hojas. Pero el enrollamiento y plegamiento foliar son probablemente las manifestaciones más evidentes y tempranas del déficit hídrico, debido a que reducen la proporción de la superficie foliar expuesta a la radiación interceptada, disminuyendo así la transpiración (Ortuño *et al.*, 2004).

Los cambios en la estructura foliar como incremento en grosor (de la cutícula, de los diferentes tejidos y finalmente de la lámina foliar), pubescencia y dimensiones celulares, y el aumento en la relación entre la superficie de las paredes expuestas al intercambio gaseoso por unidad de área de tejido fotosintético (A^{mes}/A) sirven a la planta como adaptaciones a medios calurosos y secos (Silva *et al.*, 1999). En las hojas de plantas de ambientes secos se produce un aumento de volumen en forma de tejido de almacenaje de agua, correlacionado con una disminución de la superficie de transpiración, es decir, hojas con una relación superficie/volumen pequeña, lo cual determina una consistencia suculenta o carnosa de las mismas (Lindorf *et al.*, 1991).

Las modificaciones observadas en hojas desarrolladas bajo condiciones de estrés hídrico natural o inducido, se manifiestan en los sistemas dérmico, fundamental y vascular.

La superficie foliar proporciona una interface importante entre la planta y su medio contribuyendo significativamente al balance energético. La sobrevivencia de las plantas en ambientes estresantes puede depender de las características de su

superficie y del espacio vital incluido entre ambas epidermis. La presencia de tricomas y el aumento del grosor cuticular pueden influir sobre la temperatura foliar y aumentar la resistencia al intercambio gaseoso de la capa límite cercana a la hoja, disminuyendo la transpiración y aumentando la eficiencia en el uso del agua (Silva *et al.*, 1999). Algunas hojas están adaptadas para conservar el agua gracias a sus distintas capas cerosas. Las hojas jóvenes poseen un reducido control sobre la conductancia estomática y son más pobres en ceras epicuticulares y cutina que las adultas. La cutícula cerosa abundante en ocasiones ocluye los estomas, lo que representa una pérdida de agua reducida (Agustí, 2003). Los estomas están generalmente en el envés de las hojas y en condiciones de estrés hídrico severo se cierran, restringiendo el intercambio de CO₂ y la pérdida de agua (Ortuño *et al.*, 2004).

Una respuesta común ante estrés hídrico es la producción de una cutícula gruesa la cual reduce las pérdidas de agua de la epidermis (transpiración cuticular). No obstante, la transpiración cuticular es solo del 5 al 10% de la transpiración total de la hoja, por lo que llega a ser significativa solo si el estrés es extremadamente grave o si se ha dañado la cutícula (Lincoln & Zeiger, 2006). Una cutícula gruesa y la presencia de paredes epidérmicas también gruesas y lignificadas previenen el colapso o marchitamiento de los tejidos de la hoja cuando hay pérdida de agua en exceso (Lindorf *et al.*, 1991).

La presencia de células epidérmicas más alargadas verticalmente, es según Scatena & Menezes (1995) característico de un tejido reservante de agua, por lo que este carácter se presenta como una adaptación a condiciones xéricas. Para Lindorf *et al.* (1991) los tejidos acuíferos pueden estar representados por una epidermis pluriestratificada o por una hipodermis, y consisten de células grandes con vacuolas de gran tamaño, conteniendo un jugo celular acuoso que puede tener mucílago.

En muchas especies es frecuente observar una abundante pubescencia en las dos caras de la hoja o solo en una; la presencia y tipo de tricomas en una planta se consideran de valor taxonómico; sin embargo, la densidad y el tamaño de los

pelos es probable que varíen de acuerdo al ambiente. Los tricomas pueden proteger contra la luz excesiva evitando que se calienten los tejidos subyacentes. Muchas veces los tricomas se localizan en las cercanías de los estomas cumpliendo, en dichos casos, la función de disminuir la transpiración al crear un microambiente local que hace que el gradiente de humedad entre la hoja y el ambiente sea menor (Lindorf *et al.*, 1991). Por otra parte, la pubescencia genera una capa límite (capa de aire que se mueve más lenta sobre los contornos de la hoja, debido a la acción de las fuerzas de fricción sobre su superficie) más gruesa disminuyendo por ende las tasas de transpiración (Lincoln & Zeiger, 2006).

Flores-Vindas (1999) se refiere a los estomas como aberturas (o poros) cuya función es la regulación de la pérdida de agua y el ingreso de CO₂, proceso físico mediante el cual la planta regula su temperatura; la liberación de agua a través de los estomas equivale al 99% del total de agua tomada por las raíces (Srinivasa, 1985; Bruggink *et al.*, 1987). Barrientos-Priego *et al.* (2003), afirmaron que varias funciones fisiológicas importantes de los vegetales implican intercambio gaseoso entre la hoja y la atmósfera y se llevan a cabo a través de los estomas de la epidermis foliar, por lo que el estudio de la morfología y densidad de éstos es importante para comprender los procesos citados.

Para mantener una temperatura en la hoja mucho más baja que la del aire es necesaria la evaporación de grandes cantidades de agua. Por eso, las adaptaciones morfoanatómicas que enfrían las hojas por mecanismos diferentes a la transpiración, por ejemplo, cambios en el tamaño y orientación de la hoja son muy efectivas en la reducción de la pérdida de agua (Lincoln & Zeiger, 2006).

La frecuencia o densidad estomática es bastante sensible a las condiciones ambientales, lo que permite observar diferencias entre individuos de la misma especie, hojas del mismo ejemplar y sectores de una misma hoja (Esau, 1977). La primera respuesta de las plantas durante el estrés por sequía es el cierre de los estomas para evitar las pérdidas por transpiración (Mansfield & Atkinson, 1990). El cierre estomático produce un descenso de la concentración de CO₂ disponible en

las hojas y como consecuencia, un descenso en la tasa fotosintética (Arbona & Gomez-Cardenas, 2008).

Existe una relación conspicua entre la densidad estomática y el tamaño de las células oclusivas: se presentan altas densidades de estomas en epidermis con células oclusivas pequeñas (Dickison, 2000). En algunos casos, las células anexas se arquean sobre las oclusivas formando una cámara o los cuernos cuticulares están muy desarrollados provocando que el diámetro del poro se estreche (Lindorf *et al.*, 1991).

El aumento o disminución en el número de estomas influye en la resistencia en fase gaseosa al flujo de CO₂ y vapor de agua. En especies donde los estomas son escasos o están ausentes en la epidermis superior, la conductancia al intercambio gaseoso disminuye al igual que la fotosíntesis y la transpiración. La disminución en la frecuencia estomática podría explicar una disminución de conductancia y esto reduciría la tasa de pérdida de agua, pero, también reduciría la fotosíntesis. Las plantas difieren ampliamente en la sensibilidad de los estomas a la falta de agua. Esta variabilidad está directamente asociada con los mecanismos de resistencia al estrés (Silva *et al.*, 1999).

Igualmente, los cambios anatómicos foliares pueden influir en las características físicas o bioquímicas del intercambio gaseoso a nivel de las células del mesofilo. Específicamente, la resistencia de los espacios intercelulares al intercambio gaseoso es directamente proporcional al grosor del mesofilo e inversamente proporcional a la fracción volumétrica del mesofilo ocupada por los espacios intercelulares. Las resistencias difusivas al CO₂, dependen estrechamente de la relación de áreas A^{mes}/A . Esta relación es definida como la superficie de paredes celulares de las células del mesofilo aprovechable para la asimilación de CO₂ por unidad de superficie foliar, la cual es función de las dimensiones celulares de las células del mesofilo (Silva *et al.*, 1999). Según Longstreth *et al.* (1980) el A^{mes}/A de especies C₃ varía entre 17 y 41, en tanto que para las especies C₄ varía entre 10 y 19. De acuerdo a los autores mencionados, las plantas que exhiben anatomía

Kranz con capas celulares concéntricas al haz vascular a nivel del mesofilo, tienen menor área de mesofilo que las que carecen de esta particularidad.

Generalmente, en las hojas bajo estrés hídrico ocurre un aumento en su grosor, debido al incremento pronunciado del parénquima en empalizada más que del parénquima esponjoso (Colmenares *et al.*, 2005). Korner *et al.* (1989) indicaron que este cambio incrementa la superficie interna para el almacenamiento de CO₂; por su parte Luque *et al.* (1999) señalaron que este aumento del parénquima pudiese estar relacionado con un transporte más eficiente del agua.

Por otra parte, para Rada *et al.* (1987) el engrosamiento en las paredes celulares del parénquima esponjoso aumenta la resistencia a la desecación. Además, Lindorf *et al.* (1991) señalan que este tipo de engrosamiento puede estar relacionado con la escasez de nutrientes, lo cual restringe el uso de carbohidratos para elaborar otros compuestos, por lo que se acumulan en las paredes celulares de diversos tejidos.

Algunas plantas de ambientes secos tienen con frecuencia proporciones abundantes de tejido mecánico, especialmente esclerénquima. Este tejido aparece como fibras o esclereidas, usualmente dispersas en el mesofilo como columnas o pilares que lo atraviesan, funcionando principalmente como soportes que impiden el colapso de los tejidos de la hoja cuando hay pérdidas de agua en exceso (Lindorf *et al.*, 1991).

El acortamiento de la distancia entre los haces vasculares, es un indicio de una mejor vascularización de este órgano, ya que se genera una red de venas más densa (Fahn & Cutler, 1992), característica de gran importancia bajo condiciones de disponibilidad hídrica restringida.

Considerando estos planteamientos generales, vale la pena destacar los resultados obtenidos en diferentes investigaciones donde las especies fueron sometidas a tratamientos que limitaban la suplencia de agua, tal como se describe a continuación:

Paz *et al.* (2003) trabajando en *Barleria lupulina* Lindl. (Acanthaceae) encontraron que las plantas sometidas a un tratamiento de estrés hídrico severo mostraron una disminución notoria del área foliar, encontrándose diferencias significativas al compararlas con las correspondientes a los tratamientos riego normal y estrés moderado, respectivamente. También se ha reportado una disminución en el crecimiento de las hojas y en el metabolismo del carbono y del nitrógeno en plantas de girasol sometidas a riego limitado (Cellier *et al.*, 1998).

En tres especies del género *Lantana* L. sometidas a déficit hídrico, González *et al.* (2009) determinaron el área foliar específica (definida como la relación entre el área foliar y el peso seco foliar), la cual osciló entre 220-314 cm² g⁻¹, valores típicos de hojas de mesófitas; en contraste, se han reportado valores menores (126-169 cm² g⁻¹) en hojas escleromorfas del género *Calotropis* R. Br. (Colombo *et al.*, 2007). Los altos valores de área foliar específica observados en *Lantana caracasana* Turcz., *L. canescens* Kunth. y *L. camara* L. podrían indicar que estas especies de *Lantana* no son resistentes al déficit hídrico (González *et al.*, 2009). El área foliar específica podría ser utilizado como índice de escleromorfismo: valores bajos de área foliar específica se han relacionado con una alta capacidad para resistir una baja disponibilidad de agua (Ogaya & Peñuelas, 2006).

Colmenares *et al.* (2005) estudiaron la anatomía foliar de *Polylepis erícea* Weed. (Rosaceae) a dos altitudes en los andes venezolanos y disponibilidad hídrica contrastantes, indicando que el engrosamiento de la cutícula en la época seca, protege a la planta de la transpiración excesiva y de la alta radiación.

En plantas de semeruco cultivadas en dos localidades del estado Lara (Bobare y Tarabana), con marcadas diferencias en cuanto a manejo hortícola, precipitación y temperatura promedio anual, la lámina foliar de las plantas provenientes de la zona árida de Bobare presentó una epidermis adaxial con cutícula gruesa, formada por células grandes con posible función de almacenamiento de agua, mientras que las muestras de las plantas en la localidad menos árida mostraron cutícula menos gruesa y células epidérmicas más pequeñas (Laskowski, 2000).

En ensayos bajo condiciones controladas, Kebede *et al.* (1994) obtuvieron una disminución de la frecuencia estomática en hojas de plantas de tomate sometidas a estrés hídrico, así mismo, encontraron mayor grosor de la cutícula en comparación a los hojas provenientes de plantas no estresadas. Por el contrario, Silva *et al.* (1999) notaron que en *Phaseolus vulgaris* L. la densidad estomática aumentó por efecto del tratamiento con déficit hídrico en cuatro de las seis variedades estudiadas. En soya, se observaron aumentos en la densidad de estomas bajo condiciones de sequía, tanto en la superficie adaxial como abaxial (Ciha & Brun, 1975). Por su parte, Buttery *et al.* (1993) observaron una respuesta similar, también en soya bajo disponibilidad de agua restringida, reportando incrementos en la densidad estomática en el tratamiento de estrés severo.

La Rosa *et al.* (2008), en su estudio de *Ipomoea batata* L. bajo estrés hídrico, observaron que las hojas en sequía desarrollan más parénquima lagunar. Por su parte, Silva *et al.* (1999) registraron una disminución del 26% del parénquima clorofiliano en seis cultivares de *Phaseolus* sometidos a déficit hídrico.

Alemán *et al.* (2010) compararon el efecto de tres niveles de riego (tratamientos) sobre materiales cubanos y venezolanos de *Phaseolus vulgaris* encontrando que en los materiales tolerantes o medianamente tolerantes al déficit hídrico no se observaron cambios en la estructura del mesofilo, donde el parénquima en empalizada conservó su organización sin variación en la disposición de las células, no así en aquellos susceptibles o muy susceptibles donde en el tratamiento de estrés severo se evidenció un aumento en los espacios intercelulares del parénquima en empalizada. Esto presupone una disminución en la actividad fotosintética para aquellos materiales susceptibles o muy susceptibles, debido a que el parénquima clorofílico en empalizada representa dos tercios del grosor del mesofilo de la hoja (Nobel & Walker, 1985), además, evidenciaron un amarillamiento producto del estrés, lo cual refleja una reducción en la concentración clorofílica y por ende a una disminución en la eficiencia del proceso fotosintético.

En un ambiente de alta salinidad las plantas son afectadas de dos formas, en primer lugar el efecto por estrés hídrico impuesto por la disminución del potencial osmótico del medio de enraizamiento y por otro lado el efecto tóxico de los iones con resultado de altos contenidos de solutos (Lerner, 1985).

En estudios realizados en *Atriplex repanda* Phil. Bajo condiciones de estrés hídrico, encontraron que las plantas en el tratamiento seco presentaron una menor distancia intervenal con respecto al húmedo, indicando en este último una distancia promedio de 137 μm , comparada con 125,4 μm en el seco (Silva & Acevedo, 1984).

García & Jáuregui (2008) estudiaron la anatomía foliar en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a estrés salino, donde observaron hojas más compactas y con tendencia a un mayor desarrollo de tejido esclerenquimático en posición subepidérmica a nivel de los haces conductores, en las plantas de los dos genotipos estresados con Na_2SO_4 . La distancia intervenal se redujo ligeramente en PR692176 (genotipo tolerante) y en mayor proporción en V78-1 (genotipo sensible), en comparación con las plantas no estresadas.

Las especies forrajeras halófilas de la familia Poaceae, *Trichloris crinita* (Lag.) Parodi y *Pappophorum phillippianum* Parodi poseen paquetes de fibras hacia las superficies adaxial y abaxial, que pueden interrumpir las vainas de los haces. Presentan clorénquima radiado y haces vasculares primarios con vaina parenquimática externa y mestomática interna, característica típica de las especies que habitan suelos áridos donde el grado de exposición a la luz solar y la intensidad de la misma son elevados (Pérez Cuadra & Cambi, 2010).

2.1.2. Tallo

El estrés hídrico produce en general una disminución en el alargamiento de los brotes y en el número y diámetro de los tallos. El crecimiento del tallo se reduce de forma proporcional a la reducción del suministro hídrico (Vélez *et al.*, 2007).

El xilema tiene un papel importante en la regulación de la economía hídrica (Pimienta-Barrios *et al.*, 2003). Estructuralmente este tejido es complejo, está constituido por células conductoras, fibras y parénquima, su función es la conducción del agua junto con sustancias disueltas. Las células conductoras son de dos tipos: traqueidas y elementos del vaso, ambas son alargadas, muertas en la madurez, de paredes gruesas y lignificadas, con variedad de engrosamientos secundarios y puntuaciones; se distinguen porque las traqueidas no son perforadas en los extremos, pero los miembros del vaso sí, estos últimos se conectan longitudinalmente a través de las placas perforadas (Esau, 1985; Flores-Vindas, 1999; Dickison, 2000).

A pesar de la fuerza de cohesión, la columna de agua en el xilema puede romperse (cavitar) por la alta tensión generada por condiciones de deficiencia hídrica extrema que se presentan en la naturaleza. Una vez iniciada la formación de burbujas, éstas se extienden rápidamente formando una embolia en el interior del vaso o traqueida, que se detiene en las membranas de las punteaduras. El xilema, sin embargo, minimiza los efectos de la embolia; ya que, las punteaduras actúan como válvulas que se cierran cuando la presión aumenta en uno de los vasos o el agua se mueve lateralmente a través de las punteaduras. Cuando se analiza la vulnerabilidad de la planta al embolismo, la cavitación es bastante más frecuente en los vasos amplios que en los estrechos. Por tanto, las plantas que poseen relativamente pocos vasos anchos y largos son más susceptibles a presentar procesos de embolia. Un segundo aspecto que influye en la vulnerabilidad al embolismo es la permeabilidad y la rigidez de la membrana de la punteadura, cuanto más permeables sean las membranas de las punteaduras, más fácil será el flujo lateral. No obstante, las membranas son también barreras esenciales que impiden que las burbujas de aire se dispersen de un vaso embolizado a otro (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

Para Carlquist (1988), la conducción a través de vasos numerosos con diámetro angosto es más eficiente que a través de vasos escasos con diámetro amplio. Así la cavitación de vasos angostos ocasiona menor pérdida de la capacidad de

conducción, porque comúnmente se encuentran en grupos o bien, asociados a traqueidas vasculares.

Los vasos estrechos son considerados como una ventaja adaptativa en hábitats secos, ya que son menos vulnerables a la cavitación. Por el contrario, los vasos anchos que permiten tasas mayores de flujo de agua, son más vulnerables a la cavitación por sequía, por lo que su presencia podría representar una desventaja para las plantas que crecen bajo esta condición (Gibson, 1996). Además del diámetro y densidad de vasos, parámetros como la longitud total de los vasos y la proporción de tejido con actividad fisiológica de conducción pueden ejercer una notable influencia sobre la eficiencia del movimiento de agua y nutrientes en el xilema (Oever Van Den *et al.*, 1981).

Los engrosamientos secundarios que presentan los elementos conductores también se han asociado con esta condición de estrés, indicándose que los elementos del vaso con engrosamientos helicoidales proporcionan elasticidad al sistema vascular (Preston, 1901) y ayudan a mantener la integridad del flujo de agua dentro de los vasos durante los períodos de sequía (Gibson, 1996). En estudios realizados por Pimienta-Barrios *et al.* (2003) en variedades de *Opuntia*, encontraron que un porcentaje importante de los elementos del vaso tenían pared secundaria helicoidal, propiedad común del xilema primario. Carlquist (1962) señaló que ciertos caracteres del xilema primario pueden permanecer en el xilema secundario (juvenilismo), lo cual se puede atribuir a la lenta acumulación de la pared secundaria en los elementos del vaso, como resultado de las condiciones de baja disponibilidad de agua.

En *Aspidosperma quebracho-blanco* (Shltr.) Lyons. se encontró que los elementos del vaso disminuyeron su diámetro y longitud, aumentaron su frecuencia y espesor de la pared y se agruparon en mayor proporción a medida que aumento el grado de aridez, cambios que contribuyen a prevenir el colapso de los mismos (Moglia & López, 2001a).

La modificación de algunas de estas variables se observa en diversos estudios conducidos con especies sometidas a déficit hídrico, pudiendo citar: el realizado por Laskowski (2000) en *Malpighia emarginata* DC. cultivadas en dos localidades áridas del estado Lara, revelando una gran adaptación al ambiente xérico, ya que presentan numerosos vasos cortos y de diámetro estrecho, lo cual constituye una respuesta al déficit hídrico, evitando problemas de embolismo que bloquean la conducción de agua. En *Phaseolus vulgaris*, se encontró disminución en el tamaño del vaso e incremento en la densidad de los mismos, cuando creció en suelos secos y porosos (Holste *et al.*, 2006). En un ensayo realizado por Pire *et al.* (2007), también se observó una disminución en el diámetro de los vasos en materiales de vid (*Vitis vinifera* L.) cultivados bajo tres niveles de riego, presentando valores menores en el tratamiento de riego escaso.

Otras características del sistema vascular han sido investigadas, tales como: las alteraciones que ocurren en la arquitectura de las paredes celulares de células de conducción y de soporte, y en la relación xilema/floema, las cuales pueden estar relacionadas con la resistencia de las plantas a las tensiones ambientales (Makbul *et al.*, 2011).

2.1.2.1. Índice de vulnerabilidad y mesomorfía

Carlquist (1977) estudió el impacto del diámetro, la longitud y la morfología de los elementos de vaso y su relación con algunos factores ecológicos, principalmente la precipitación media anual en diferentes comunidades vegetales. Para ello, formuló dos índices que relacionan la anatomía de la madera con la humedad donde crecen las plantas. Estos son el índice de vulnerabilidad (IV) que es igual al diámetro promedio de los elementos de los vasos entre la frecuencia o número de poros por mm². En otras palabras, el índice de vulnerabilidad es directamente proporcional al diámetro e inversamente proporcional a la frecuencia de poros. El autor sostiene que las especies cuyo xilema presenta valores de IV por encima de 1 son vulnerables a la cavitación o poco resistentes al estrés hídrico, y cuando los valores son menores a 1 son resistentes al embolismo y seguras en la conducción del agua. El otro índice es el de mesomorfía (IM) que consiste en multiplicar el

índice de vulnerabilidad por la longitud promedio de los elementos de los vasos. Esto indica que es directamente proporcional al diámetro y a la longitud de los elementos de los vasos. Para un valor mayor a 200 las maderas son mesomórficas y valores por debajo de 75 corresponden a maderas xeromórficas.

Según Carlquist & Hoekman (1985), los principales indicadores de mesomorfía son número reducido de vasos por mm^2 , diámetro amplio de poros, elementos vasculares largos y ausencia tanto de traqueidas como de engrosamientos espiralados. Lindorf (1994) señaló que las especies con rasgos mesomórficos desarrollan una estructura conectada con una alta eficiencia, pero una baja seguridad de conducción, lo cual se manifiesta en vasos o poros de mayor tamaño y en menor número por unidad de superficie. Mientras más se aleja el índice de vulnerabilidad del valor correspondiente a la unidad significa ($IV > 1$), significa una mayor orientación hacia condiciones que garanticen la eficiencia de la conductividad en sacrificio de la seguridad.

A juicio de Lindorf (1998), factores como temperatura, irradiación y disponibilidad de agua se correlacionan con determinadas características anatómicas de la madera y la estructura foliar, coincidiendo con topologías xeromórficas o mesomórficas.

Algunos autores han argumentado la carencia de significado predictivo o funcional de estos índices, basándose en el hecho de que en algunos casos los valores obtenidos muestran un amplio rango de variación, a pesar de la uniformidad del hábitat (Lindorf, 1994). Sin embargo, a pesar de esas amplias variaciones, los índices de Carlquist son los únicos que se han propuesto para determinar relaciones de elementos de conducción con el medio donde crece la planta, y las razones por las cuales son objetados se deben a que parte de esas características tienen que ver con aspectos genéticos y evolutivos propios de cada especie (León, 2005).

Dichos índices han sido usados mayormente en especies arbóreas; no obstante, también se han aplicado a especies herbáceas y arbustivas, tal es el caso del

trabajo de Carlquist (1983) con cuatro especies de *Calyceraceae* y *Valerianaceae*, el de Oladele & Daudo (1988) en *Gomphrena celosioides* Mart., y recientemente el de Jáuregui *et al.* (2014) en *G. albiflora* Moq.

2.1.2.2. Conductividad hidráulica

La planta es un sistema hidráulico comparable a una red de tuberías, en las cuales el agua es transportada por un gradiente de potencial hídrico considerablemente negativo existente entre el suelo, planta y atmósfera (Ritchie, 1981). Según la teoría de cohesión-tensión en plantas con metabolismo C₃, la apertura de los estomas durante la fijación del carbono y la consecuente transpiración, junto con la elevada cohesión entre las moléculas de agua genera la tensión o succión necesaria para que la absorción del agua por las raíces ocurra, dando inicio al transporte del agua por los conductos xilemáticos hasta los sitios de transpiración en la hoja (Steudle, 1995).

El flujo de agua del suelo al ambiente a través de la planta y su retención por los tejidos depende del potencial hídrico. El agua se mueve desde una zona de potencial hídrico alto a una zona de potencial hídrico menor, independientemente de la causa que provoque esta diferencia (Turner, 1981).

Las características anatómicas del sistema de conducción de agua en las plantas pueden tener un profundo impacto sobre la conductividad hidráulica de un árbol (Tyree & Zimmerman, 2002), pero plantas con otros biotipos no escapan a este planteamiento. Desde un punto de vista ingenieril, el xilema es la red de distribución de agua desde la raíz a los principales consumidores, las hojas, en la parte superior de la planta (Karam, 2005). Se ha indicado que el tamaño y diámetro de los vasos y la proporción de xilema, en tallos principales de frutales son importantes para definir la cantidad de agua que pueda transportarse (Reyes-Santamaría *et al.*, 2002).

Los vasos encierran columnas de agua que están bajo tensión ($\Delta\Psi$) a causa del proceso transpiratorio. Este fenómeno se encuentra explicado por la Teoría Coheso Tensiva (Dixon, 1914), la cual indica que la transpiración crea una

diferencia de potencial hídrico, traduciéndose en una fuerza impulsora que se transmite desde las hojas a las raíces, y provoca el ingreso del agua desde el suelo a la planta, la fuerza que dirige el movimiento del agua en el xilema es proporcionada por la transpiración del agua en las hojas y por la tensión negativa resultante de este proceso.

La conductividad hidráulica es definida como el parámetro de proporcionalidad entre el flujo de agua sobre la diferencia del gradiente del potencial hídrico. Una de las características que controla la conductividad hidráulica es el tamaño de los vasos del xilema (Kramer, 1983).

La pérdida de conductividad hidráulica provoca que la parte aérea de la planta reciba menos agua de la necesaria y consecuentemente sufra deshidratación. Esta deshidratación será más severa a medida que la pérdida de conductividad hidráulica sea mayor a causa de un incremento en el número de vasos cavitados (Lincoln & Zeiger, 2002). La cavitación es muy frecuente en condiciones de sequía, y aumenta a medida que se incrementa dicha condición (Azcón-Bieto & Talón, 2000; Tyree & Zimmermann, 2002).

En las últimas dos décadas se ha estudiado con mayor énfasis la conductividad hidráulica como un factor que puede ser controlado a mediano plazo por la planta para restringir el ascenso de agua en períodos recurrentes o prolongados de sequía (Schultz & Matthews, 1993). En condiciones de déficit hídrico fuerte se han encontrado modificaciones de la conductividad no solo en tallo sino también en raíz (Peterlunger *et al.*, 2000). En tales casos, la restricción al paso de agua puede producirse por reducción del área xilemática o del diámetro de los vasos. La conductividad hidráulica disminuye por efecto del déficit hídrico y varía dentro del mismo tallo, presentando valores mayores hacia la base y los menores hacia el ápice, esta disminución está asociada con un menor diámetro de los vasos del xilema (Salleo *et al.*, 1985).

2.2. Variables ecofisiológicas indicadoras de estrés hídrico en las plantas

2.2.1. Contenido relativo de agua

El contenido relativo de agua (CRA) es considerado una medida sencilla y eficaz para la determinación del estado hídrico de la planta. Se expresa como la cantidad de agua de un tejido en comparación con la que podría contener en condiciones de máxima hidratación. Hsiao (1973) categorizó el estrés hídrico, considerando los valores de potencial hídrico (ψ_w) y la reducción del CRA:

- Déficit hídrico ligero: Cuando el ψ_w es mayor de -0,5 MPa o cuando el CRA se reduce en un 8-10 %.
- Déficit hídrico moderado: Cuando el ψ_w está entre -0,5 a -1,2 ó -1,5 MPa o cuando el CRA decrece entre 10 y 20 %.
- Déficit hídrico severo: Cuando el ψ_w es menor de -1,5 MPa o cuando el CRA disminuye en más de 20%.

Estudios realizados en genotipos susceptibles y tolerantes al déficit hídrico en *P. vulgaris*, indican que el CRA disminuyó significativamente en los tratamientos de riego moderado y severo en la mayoría de los genotipos susceptibles, a diferencia de los tolerantes cuyos valores no mostraron diferencias significativas en los tratamientos (Alemán *et al.*, 2010). Estas diferencias pueden ser atribuidas a la capacidad de variar la absorción de agua del suelo y/o a la capacidad de controlar la pérdida de agua a través de los estomas (Bayoumi *et al.*, 2008).

Guenni *et al.* (2007) estudiaron la variación en las relaciones hídricas y fotosíntesis neta de la hoja en los géneros *Centrosema*, *Desmodium* y *Stylosanthes* cultivadas por dos años en una sabana de los llanos orientales del país, donde el contenido relativo de agua en la hoja (CRA) en ningún caso bajó del 75% en las accesiones evaluadas. En *C. macrocarpum* la máxima variación dentro de una misma accesión fue de 75% (Marzo, sequía) a 92% (Julio, lluvias) en el año 2006. En el caso de *C. acutifolium*, el CRA no disminuyó por debajo de 88% aún en los picos de sequía.

En especies forrajeras de *Brachiaria* (Trin.) Griseb., la marcada disminución del CRA foliar en *B. brizantha* (Hochst. ex A.Rich.) Stapf y *B. decumbens* Stapf a medida que transcurre la sequía estaría asociada a una drástica reducción en la humedad del suelo en los primeros horizontes; producto de su sistema radical mayormente superficial. En contraste, la relativa baja reducción del CRA en *B. dictyoneura* (Fig. & De Not) Stapf y, en menor grado en *B. humidicola* (Rendle) Schweick., posiblemente sea el resultado de su sistema radical relativamente más profundo y con una eficiencia más alta en la extracción del agua por debajo de los 50 cm (Guenni *et al.*, 2006).

Las plantas de *Barleria lupulina* sometidas a tres regímenes de riego, mostraron una disminución del CRA a medida que se acentuaba el estrés hídrico; en los tratamientos riego normal y estrés moderado, el contenido relativo de agua fue de 55,4% y 44,7%, respectivamente, mientras que en el tratamiento estrés severo se presentó un valor inferior (26,8%) en comparación con los anteriores (Paz *et al.*, 2003).

2.2.2. Potencial hídrico

El estado hídrico de la planta depende del balance entre el agua que la planta absorbe del suelo y la que pierde por transpiración. Un exceso de transpiración con respecto a la absorción determina un balance hídrico negativo, generándose así una situación de déficit cuyas consecuencias dependerán de su magnitud y duración. El estatus hídrico puede influir poderosamente sobre la elongación y división celular, en el crecimiento y la producción de materia seca por las plantas, y por ende sobre el rendimiento de grano, forraje, madera, etc. Las plantas poseen mecanismos capaces, dentro de ciertos límites, de regular la tasa de absorción y transpiración, y consecuentemente, el balance hídrico. Los controles más importantes en este sentido residen en el grado de apertura del ostíolo (estomas con poros reducidos restringen la pérdida de agua), la modulación de la expansión foliar (hojas más pequeñas reducen el tamaño del aparato transpiratorio), variaciones en el ángulo de inserción foliar (la carga de radiación se reduce si las hojas se orientan en paralelo a los rayos solares), en la senescencia y abscisión

de una parte de las hojas (reduce el tamaño del aparato transpiratorio) y cambios en la relación área foliar/extensión de raíces, lo que modifica el balance absorción-transpiración (Salisbury & Ross, 1985).

El potencial hídrico foliar es una variable frecuentemente utilizada para medir el estado hídrico de los cultivos (Schultz, 2003). Se define como el trabajo requerido para transferir una cantidad masa o volumen de agua del estado de referencia ($\psi_w = 0$) al sitio donde el potencial tiene el valor más negativo. Así, el agua tenderá a moverse de 10 ml de solución de $\psi_w = -0,2$ MPa a 10 litros de solución cuyo $\psi_w = -1,2$ MPa, a pesar de que el volumen y el contenido energético total de la segunda masa sea mayor (Salisbury & Ross, 1985).

Cuando el potencial hídrico varía entre $-1,5$ y $-2,5$ MPa se entiende que el estrés es severo, y existe el riesgo que las plantas sufran daños, esto hace que la mayoría de las plantas cierren los estomas para evitar su desecación. Además, reduce la fotosíntesis y disminuye el crecimiento (Lopushinsky, 1990). Si alcanza valores inferiores a $-2,5$ MPa, el estrés hídrico es extremo y las plantas pueden sufrir daños físicos o incluso morir (Landis *et al.*, 1989).

En estudios realizados en las especies *C. molle*, *C. macrocarpum*, *C. brasilianum*, y *Pueraria phaseoloides* sometidas a déficit hídrico, las plantas no regadas mostraron una disminución progresiva en ψ_w a lo largo del tiempo, alcanzando el valor más negativo alrededor de la época en que mostraron los primeros síntomas de marchitamiento, siendo las especies *C. molle* y *P. phaseoloides* las que presentaron los valores más negativos del potencial hídrico, alrededor de $-2,1$ MPa. En contraste, los valores de ψ_w en las plantas con riego variaron en un rango relativamente estrecho: $-0,5$ a $-0,15$ MPa (Tam, 2006).

Guenni *et al.* (2006) compararon la respuesta al déficit hídrico del suelo en cinco especies del género *Brachiaria*, determinando que los primeros síntomas de marchitamiento en todas las especies ocurrieron a potenciales hídricos $\sim -2,0$ MPa. Sin embargo, las diferencias entre especies estuvieron más relacionadas con el tiempo requerido para alcanzar estos valores críticos de ψ_w . En el caso de *B.*

brizantha y *B. decumbens*, dicho lapso fue de aproximadamente 21 días después de la suspensión del riego, mientras que para *B. humidicola* y *B. dictyoneura* dicho período se extendió a 30 y 60 días, respectivamente. En *B. mutica* los síntomas de marchitamiento se manifestaron alrededor de los 49 días sin riego, presentando el potencial hídrico más negativo ($> -2,0\text{MPa}$) que las otras especies. Esto pudiera relacionarse con la menor tolerancia a la sequía de esta especie adaptada a áreas pantanosas e inundables.

Estudios realizados por Quintal *et al.* (2012) en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) sometidas a estrés hídrico, se observó una relación directamente proporcional entre el contenido de humedad y el potencial hídrico de la hoja. En los tratamientos T1 (60% de la humedad aprovechable total del sustrato) y T2 (con 50% de la misma) se registraron los valores más altos de contenido de humedad del sustrato y de potencial hídrico foliar. El tratamiento con menos riego T5 (con 20%) fue donde se registró el menor potencial hídrico y la menor humedad del sustrato. Godoy *et al.* (2005) e Ismail (2010), indicaron que a menor disponibilidad del agua en el suelo es menor también el potencial hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: Se estudiaron dos especies de *Centrosema*, *C. molle* Benth (sensible) y *C. macrocarpum* Benth (tolerante) de acuerdo a estudios previos realizados por Guenni (2014).

Descripción del ensayo: El estudio se llevó a cabo en el campo experimental de la Sección de Forrajes del Instituto de Producción Animal, FAGRO – UCV, la cual se encuentra a 459 msnm, el suelo presenta una textura franca a franca-limosa a la profundidad de 0 - 0,05 m y una textura franca - arenosa hasta los 0,2 m. El clima se caracteriza por ser seco a sub-húmedo con promedios de temperatura mínima y máxima de 18° y 30°, respectivamente (Guenni, 2014).

Se trabajó en 16 parcelas de 4,4 x 3,6 m (ya establecidas en campo), en un diseño de bloques al azar con cuatro (4) repeticiones y un total de ocho (8) parcelas para cada una de las especies, cuya densidad de siembra fue de 60 plantas/m². Estas parcelas fueron sometidas a dos tratamientos de riego: con riego (CR, aplicando riego continuo dos veces por semana con un lámina de agua de 8-10 mm) y sin riego (SR). Antes de empezar estos tratamientos, se realizó un corte uniforme y se fertilizó (con un fertilizante comercial conteniendo N: P: K: Mg: S), luego de transcurrida una semana se iniciaron los tratamientos. Esto fue realizado durante aproximadamente cinco meses, en la época seca del año 2013. Detalles del diseño de campo y manejo de las parcelas experimentales se muestran en Guenni (2014).

Muestreo y preservación del material vegetal recolectado: Se recolectaron segmentos de tallo y lámina foliar en dos (2) individuos de cada especie por cada tratamiento y repetición, esto se hizo al final del período de sequía 2013. En el caso del tallo, se tomó el cuarto o quinto entrenudo contado desde el ápice hacia la parte basal de la planta, se verificó que dichos segmentos de tallo tuviesen un diámetro similar (grosor). Además, se recolectaron las hojas ubicadas en el cuarto o quinto nudo contados de la manera antes expuesta ya que estas hojas completamente desarrolladas; se cortaron fragmentos de 1 x 1 cm del folíolo

medio, tomando en cuenta que el nervio central quedara en el centro del trozo. El material vegetal fue fijado y preservado en FAA (formaldehído, ácido acético glacial y etanol 70%) hasta su procesamiento.

Procesamiento del material vegetal:

El estudio anatómico se llevó a cabo en el Laboratorio de Morfoanatomía Vegetal del Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay, Estado Aragua.

Secciones transversales con micrótomos rotatorios: el material vegetal (trozos de tallo y de lámina foliar) previamente fijado en FAA se subdividió y se lavó con agua para eliminar el fijador. Posteriormente, se deshidrató en una serie gradual, ascendente de ABT (alcohol butílico terciario), dejándose por 3 horas en cada solución. Las muestras se colocaron en paraplast dentro de una estufa para la infiltración, una vez evaporado todo el ABT puro, se le hicieron tres cambios de paraplast por decantación y se vaciaron en los moldes, formando los bloques de este producto solidificado, los cuales fueron individualizados para su montaje sobre los soportes. Se obtuvieron secciones de 10-12 μm de grosor. La tinción se efectuó con safranina – azul astra y el montaje en bálsamo de Canadá (Johansen, 1940; Kraus & Arduin, 1997).

Macerado total: Se tomaron trozos de tallos fijados y se colocaron en una capsula de petri, a fin de subdividirlos en porciones muy pequeñas con la ayuda de una hojilla. Dichas porciones se pasaron a un vaso de precipitado tipo Griffin con solución de Jeffrey (1:1), la cual consiste en mezclar ácido nítrico (10%) con ácido crómico (10%) (Johansen, 1940) y se colocaron en una estufa a 60°C hasta su disociación. Se eliminó la solución por decantación y se realizaron varios lavados con agua destilada, separando el material de forma mecánica con ayuda de una varilla de vidrio. Luego se agregaron unas gotas de safranina para teñir el material. De dicha suspensión, se tomaron alícuotas con una pipeta plástica y se colocaron en portaobjetos, preparando láminas semipermanentes.

Macerado parcial: Se colocaron porciones del folíolo central de 0,5 x 0,5 cm en una solución de hipoclorito de sodio al 3,4% durante 15 horas, a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se efectuaron cuatro lavados con agua destilada y se colocaron las muestras en capsulas de Petri con agua; se trabajó bajo un microscopio estereoscópico para separar las dos epidermis con ayuda de pinceles finos; los fragmentos obtenidos fueron teñidos con azul de toluidina acuosa (1%) y montados en agua:glicerina sobre láminas portaobjetos (V/V).

Observaciones y análisis: Todas las preparaciones microscópicas se estudiaron bajo un microscopio óptico calibrado marca Global Germany modelo CE L-1800, equipado con un ocular micrométrico, que se usó para la estimación de algunas variables anatómicas cuantitativas; se tomaron 30 observaciones en cada variable, considerando el número de montajes realizados. Adicionalmente, con el microscopio óptico marca Nikon Eclipse Modelo E200 y con la ayuda de una cámara digital incorporada al mismo, modelo Evolution LC Color, se capturaron las imágenes ilustrativas de la anatomía de la lámina foliar y caulinar de las dos especies de *Centrosema*.

Se determinaron las siguientes variables:

Lámina Foliar	Tallo
Área foliar	Espesor de la región cortical (μm)
Espesor de la epidermis superior (μm)	Espesor del floema (μm)
Espesor de la epidermis inferior (μm)	Espesor del xilema (μm)
Espesor del mesófilo (μm)	Diámetro de la médula (μm)
Espesor parénquima en empalizada (μm)	Densidad de vasos del metaxilema (N° vasos/ mm^2)
Espesor parénquima esponjoso (μm)	Diámetro de vasos mayores (μm)
Largo y ancho de células del parénquima en empalizada, ubicadas hacia la cara adaxial y abaxial (μm)	Longitud de los elementos del vaso (μm)
Espesor de la lámina foliar (μm)	Tipos de engrosamiento de la pared celular secundaria de los vasos y porcentaje de vasos con uno u otro tipo de engrosamiento
Densidad de estomas y tricomas (N° de estomas y tricomas / mm^2)	Tipo de placa perforada y porcentaje de vasos con uno u otro tipo de placa perforada

Además, se calculó el índice de vulnerabilidad (IV) y de mesomorfía del leño (IM) utilizando las siguientes fórmulas de Carlquist (1977):

$$IV = \text{Diámetro de vasos} / N^{\circ} \text{ de vasos por mm}^2$$

$$IM = \text{Índice de vulnerabilidad} \times \text{longitud promedio de elementos de vasos}$$

Las variables ecofisiológicas relacionadas con las modificaciones anatómicas observadas fueron: contenido relativo de agua (CRA), potencial hídrico, área foliar específica (AFE) y conductividad hidráulica teórica (Km). La información para las tres primeras variables, fue tomada de un estudio previo realizado en las mismas parcelas (Guenni, 2014).

En el caso del área foliar se tomó una muestra de hojas verdes del cuarto o quinto nudo y se midió con un medidor electrónico CI-202, CID Inc., USA.

La conductividad hidráulica teórica (K_n), se calculó mediante la siguiente ecuación (Gibson *et al.*, 1984):

$$K_n = \pi \sum d^4 / 128 \eta$$

donde η es la viscosidad dinámica del fluido (1.002×10^{-3} Pa-s) y d es el diámetro de los vasos en metros.

Análisis Estadístico:

Se calcularon los estadísticos descriptivos: media, desviación estándar y coeficiente de variación para todas las variables consideradas en el presente estudio. Los resultados fueron analizados con un ANAVAR para un arreglo factorial de dos factores: especies (2) y tratamientos de humedad (2), sobre un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, para un total de $2 \times 2 \times 4$. Posteriormente, para la comparación de medias entre especies y tratamientos se realizó la prueba de la Mínima Diferencia Significativa Honesta de Tukey ($P \leq 0,05$).

Con la finalidad de establecer posibles relaciones de similitud entre las especies estudiadas a través de los tratamientos de riego, así como para determinar

algunos caracteres que podrían tener valor en la discriminación de las mismas, se aplicó la técnica del análisis por componentes principales de la varianza total, a partir de la matriz de correlaciones.

Los datos de campo fueron organizados en una base de datos usando el programa Microsoft Office Excel. Los estadísticos descriptivos, el análisis de varianza, las pruebas de media de Tukey y el análisis de componentes principales se obtuvieron utilizando el software estadístico InfoStat (2008).

RESULTADOS

1. HOJA

Las láminas foliares de ambas especies de *Centrosema* bajo el tratamiento control (con riego) presentaron características histológicas similares (Figs. 1A, 1C), En sección transversal, la epidermis adaxial está formada por una capa de células típicas cuadrangulares a rectangulares, con paredes celulares externas más cutícula relativamente gruesas, estomas al mismo nivel que dichas células, y tricomas glandulares y tectores. El mesofilo está constituido por parénquima en empalizada con una a dos capas de células alargadas, provistas de gran cantidad de cloroplastos y pocos espacios aéreos. Seguido a este tejido está el parénquima esponjoso, el cual presenta células redondeadas y mayor cantidad de espacios intercelulares, si se le compara con el parénquima en empalizada; en este tejido se localizan los haces vasculares de tipo colateral cerrado. Con frecuencia se observó parénquima en empalizada próximo a la epidermis abaxial, formado por una capa de células alargadas, pero de menor tamaño que las ubicadas hacia la superficie adaxial. La epidermis abaxial está constituida por células típicas cuadrangulares, más pequeñas que las de la adaxial, revestidas por una cutícula evidente, y con estomas y tricomas semejantes a los ubicados en la adaxial.

En vista paradérmica, ambas especies mostraron células epidérmicas típicas isodiamétricas y alargadas, de paredes onduladas y gruesas en la superficie adaxial (Figs. 2A 2C, 3A, 3C), y muy onduladas y delgadas en la abaxial (Figs. 2B, 2D, 3B, 3D). Los tricomas glandulares tienen pie unicelular y cabeza ovoide multicelular, todas las células de paredes delgadas. Los tectores son bicelulares, de diferentes longitudes, flexibles, de paredes gruesas y ápice agudo. En ambas epidermis, se observaron estomas anisocíticos y paracíticos (Figs. 2 y 3).

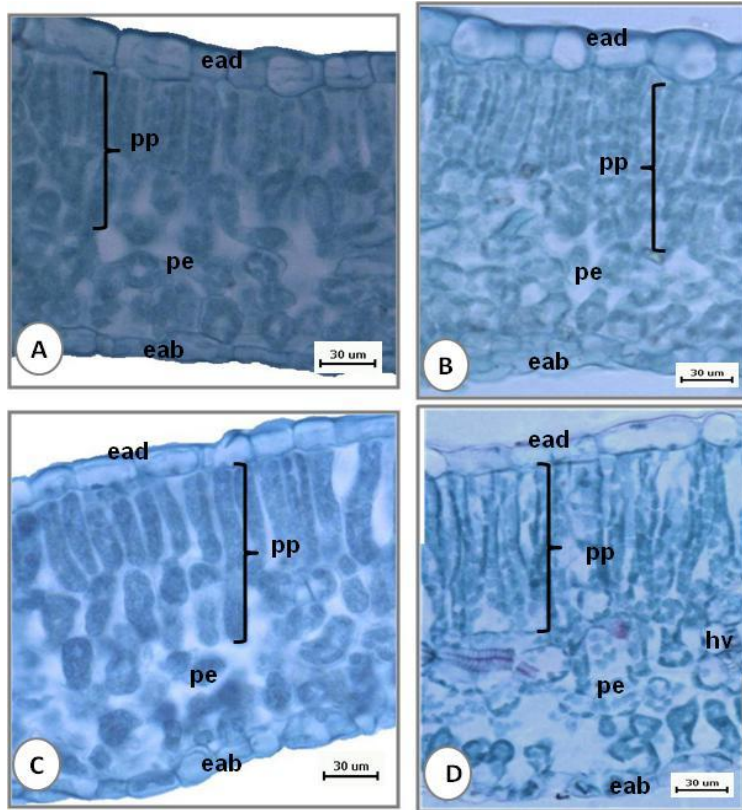


Fig. 1. Secciones transversales de la lámina foliar de dos especies de *Centrosema*. A y B. *C. macrocarpum*, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. C y D. *C. molle*, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. Epidermis adaxial (ead), epidermis abaxial (eab), parénquima en empalizada (pp), parénquima esponjoso (pe) y haz vascular (hv).

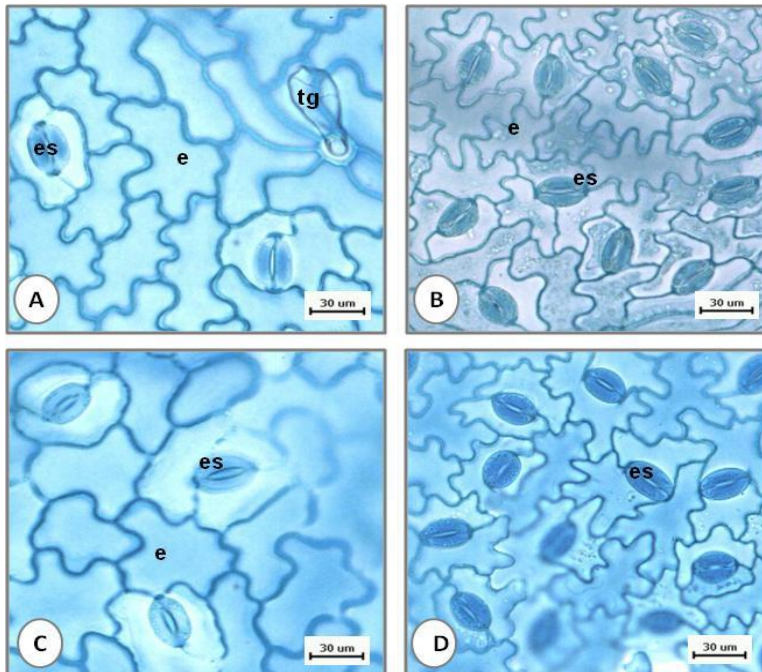


Fig. 2. Epidermis foliar de *Centrosema macrocarpum* (vistas paradérmicas). A y C. Adaxial, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. B y D. Abaxial, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. Células epidérmicas típicas (e), estomas (es) y tricoma glandular (tg).

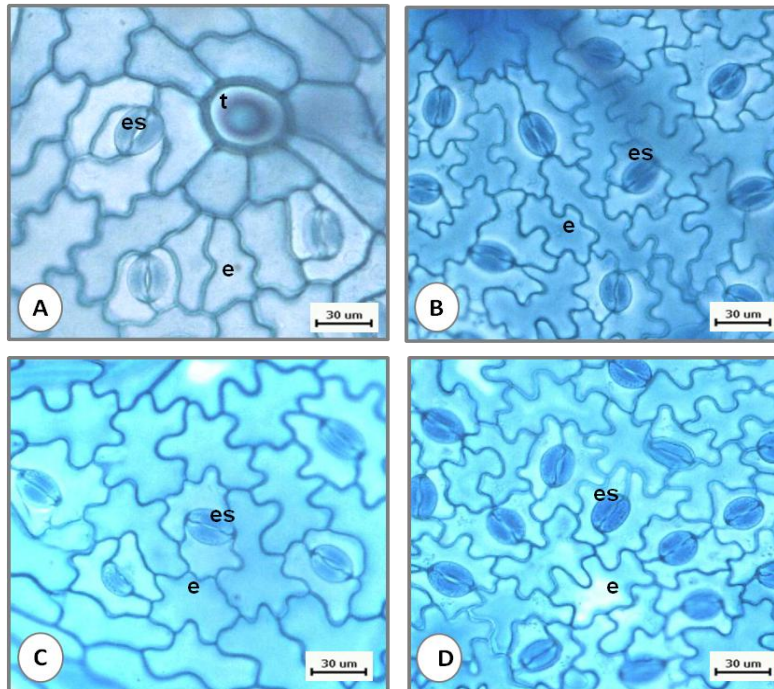


Fig. 3. Epidermis foliar de *Centrosema molle* (vistas paradérmicas). A y C. Adaxial, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. B y D. Abaxial, tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. Células epidérmicas típicas (e), estomas (es) y base de tricoma (t).

El crecimiento bajo condiciones de déficit hídrico originó cambios cuantitativos en las características anatómicas evaluadas en ambas especies, como puede observarse en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores promedio de las variables epidérmicas foliares de *C. macrocarpum* y *C. molle* con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	ESP_EPAD (μm)		ESP_EPAB (μm)		D_ESTADAX (N° de estomas/ mm^2)		D_ESTABAX (N° de estomas/ mm^2)		D_TRICADAX (N° de tricomas/ mm^2)		D_TRICABAX (N° de tricomas/ mm^2)	
	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	15,63 b	19,59 a	9,69 a	11,15 a	81,13 a	99,5 a	595,67 a	655,43 a	55,67 a	63,05 a	68,53 b	89,09 a
<i>C. molle</i>	12,92 a	15,94 a	9,06 a	10,21 a	167,49 b	233,01 a	591,01 a	679,82 a	46,89 a	56,75 a	51,83 a	61,4 a
CM Tratamiento	30	0,0016	3,12	0,1196	19199,3	<0,0001	7768,5	0,0577	176,92	0,1407	999,93	0,0019
DMS Tratamiento	3,4727		2,43349		53,4012		102,06		19,1623		20,4101	

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego dentro de cada especie. Espesor de la epidermis adaxial (ESP_EPAD), espesor de la epidermis abaxial (ESP_EPAB), densidad de estomas de la epidermis adaxial (D_ESTADAX), densidad de estomas de la epidermis abaxial (D_ESTABAX), densidad de tricomas de la epidermis adaxial (D_TRICADAX) y densidad de tricomas de la epidermis abaxial (D_TRICABAX).

El espesor de la epidermis adaxial más la cutícula en ambas especies se incrementó por efecto del estrés hídrico (Cuadro 1, Fig. 4), no obstante, el análisis estadístico solo arrojó diferencias significativas ($p < 0,05$) en la leguminosa *C. macrocarpum*, donde el aumento fue de 25,3%, comparado con *C. molle* 23,3%. Algunas de las células de este tejido, se observaron globosas en los dos taxones (Fig. 5A, 5B). En la epidermis abaxial a pesar de que no hubo diferencias

significativas en las dos especies, también se notó el incremento pero en menor proporción, dicho aumento en *C. macrocarpum* fue de 14% y en *C. molle* de 12%.

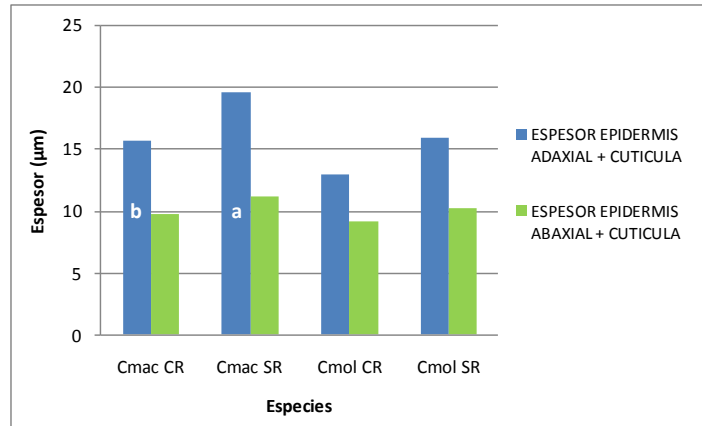


Fig. 4. Espesor de las epidermis adaxial y abaxial más cutícula en folíolos de *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos, con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

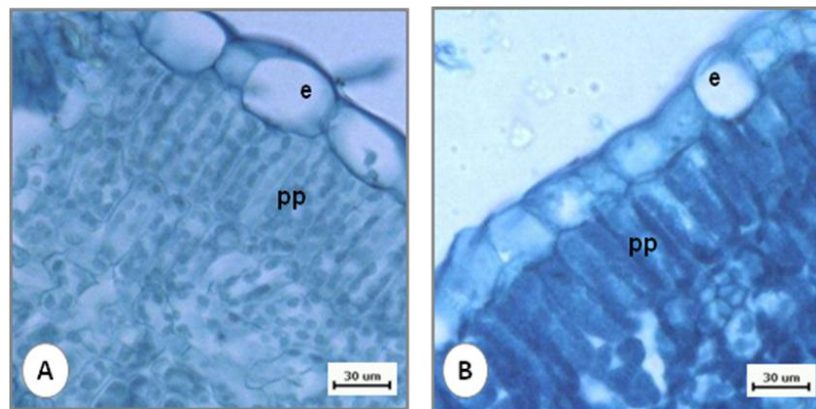


Fig. 5. Secciones transversales de la lámina foliar en dos especies de *Centrosema*, sometidas a estrés hídrico. A. *C. macrocarpum*. B. *C. molle*. Obsérvense células epidérmicas globosas en ambas especies. Epidermis (e) y parénquima en empalizada (pp).

También se detectaron efectos de tratamiento sobre la densidad estomática en las hojas de las dos especies de *Centrosema*. El estrés hídrico incrementó el número de estomas por unidad de área tanto en la superficie adaxial como en la abaxial en ambas especies (Cuadro 1, Fig. 6). El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en la leguminosa *C. macrocarpum*, donde el aumento fue de 23% y 10%, en las superficies adaxial y abaxial, respectivamente. Sin embargo, en *C. molle* hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) solo en la superficie adaxial, donde el incremento fue de 39%, comparado con 15% en la abaxial.

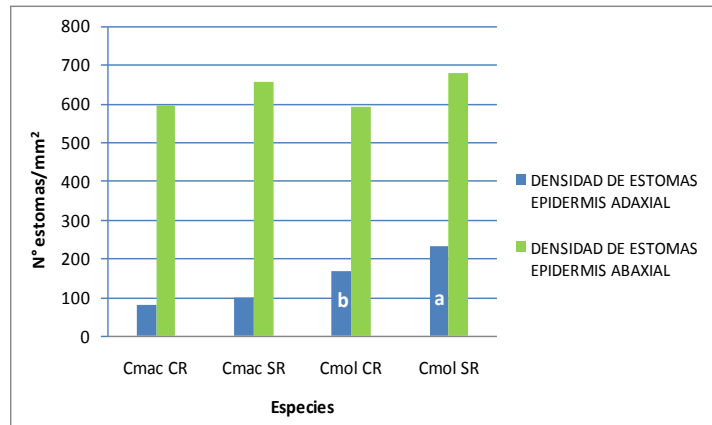


Fig. 6. Densidad de estomas en las epidermis adaxial y abaxial de *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

La densidad de tricomas se vio afectada por la condición de estrés hídrico (Fig. 7), incrementándose el número de tricomas por unidad de área en el tratamiento sin riego para ambas especies y en las dos epidermis. El análisis estadístico no evidenció diferencias significativas en la cara adaxial; no obstante, el aumento fue de 14% en *C. macrocarpum* y de 21% en *C. molle*. Mientras que, en la cara abaxial, solo se produjeron diferencias significativas ($p < 0,05$) en *C. macrocarpum*; el aumento en este caso fue de aproximadamente 30%, mientras que en *C. molle* fue de 18%.

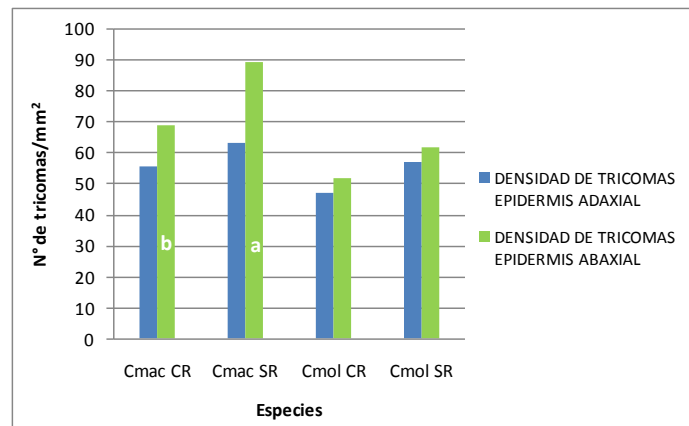


Fig. 7. Densidad de tricomas en las epidermis adaxial y abaxial para las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

Las variables medidas asociadas al mesofilo, también se modificaron, como se observa en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Valores promedio de las variables anatómicas foliares de *C. macrocarpum* y *C. molle* con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	ESP_LFOL (μm)		ESP_MESO (μm)		ESP_PE (μm)		ESP_PESP (μm)		LA_PE (μm)		AN_PE (μm)	
	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	138,23 a	150,94 a	110,84 a	119,27 a	89,07 a	96,25 a	20,42 b	23,86 a	31,77 a	37,09 a	8,96 a	8,02 a
<i>C. molle</i>	122,5 a	128,03 a	95,11 a	101,98 a	84,27 a	91,98 a	11,67 a	13,54 a	37,61 a	40 a	8,44 a	7,09 a
CM Tratamiento	625,78	0,0757	442,34	0,0351	101,52	0,1266	131,35	<0,0001	48,18	0,0417	2,51	0,03
DMS Tratamiento	30,789		21,9878		14,0987		3,0523		7,50975		1,60768	

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego. Espesor lámina foliar (ESP_LFL), espesor mesofilo (ESP_MESO), espesor parénquima en empalizada (ESP_PE), espesor parénquima esponjoso (ESP_PESP), largo de las células del parénquima en empalizada (LA_PE), ancho de las células del parénquima en empalizada (AN_PE).

Los cambios en el grosor del folíolo central por efecto del déficit hídrico no fueron significativos, pero siguieron la misma tendencia en las dos leguminosas forrajeras, aumentando aproximadamente $9 \mu\text{m}$ en *C. macrocarpum* y $6 \mu\text{m}$ en *C. molle* (Cuadro 2, Fig. 8). Este aumento por efecto del tratamiento sin riego estuvo asociado al acrecentamiento en el grosor de las epidermis y del clorénquima.

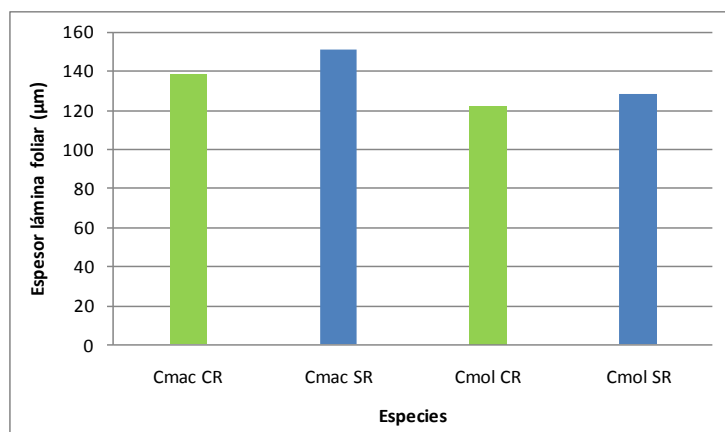


Fig. 8. Espesor de la lámina foliar en las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

La sequía indujo a un aumento en el grosor del parénquima en empalizada y del esponjoso (Fig. 10), provocando un mayor espesor del mesofilo, el cual representó $8,4 \mu\text{m}$ de incremento en *C. macrocarpum* y de $6,9 \mu\text{m}$ en *C. molle* (Fig. 9). Otro aspecto que influyó en el cambio del espesor del mesofilo fue el largo de las células del parénquima en empalizada (Cuadro 2), aunque el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas en ambas especies, en *C. macrocarpum* el incremento fue de 17%, mientras que en *C. molle* fue de 6%. El ancho de dichas células tampoco presentó diferencias significativas, sin embargo en este caso sus valores disminuyeron 10% en *C. macrocarpum* y 16% en *C. molle*.

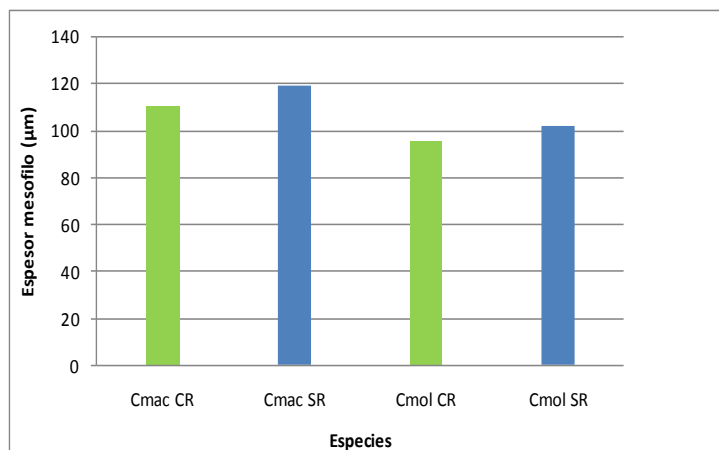


Fig. 9. Espesor del mesofilo en las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

Como se indicó anteriormente en las plantas sometidas a riego, las muestras de hojas de ambas especies presentaron arreglo bifacial e isofacial; sin embargo, en las plantas bajo estrés hídrico el arreglo isofacial fue más común o se manifestó más, lo cual provocó el acrecentamiento del parénquima en empalizada (Figs. 10, 11A y 11B). A pesar de que el análisis estadístico no mostró diferencias significativas, el incremento de este tejido fue de 7,18 µm en *C. macrocarpum* y de 7,71 µm en *C. molle*. En cuanto al parénquima esponjoso, solo hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en *C. macrocarpum*, donde incrementó 3,44 µm, mientras que en *C. molle* aumentó de 1,87 µm.

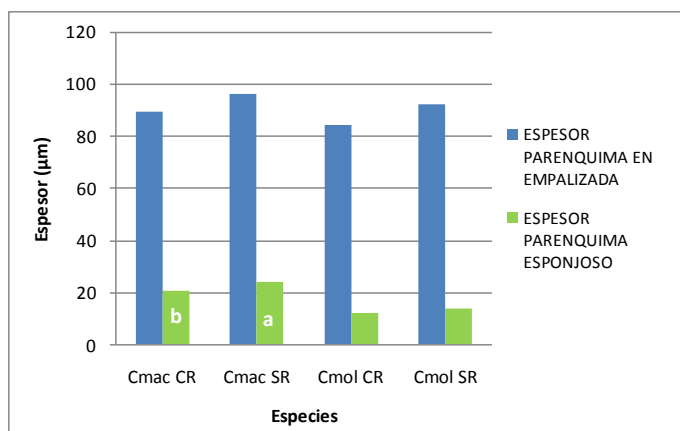


Fig. 10. Espesor del parenquima en empalizada y esponjoso en las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

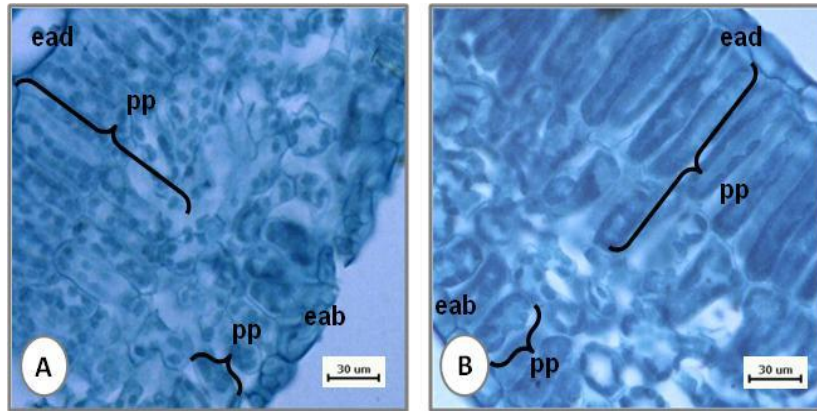


Fig. 11. Secciones transversales de la lámina foliar en dos especies de *Centrosema*, sometidas a estrés hídrico. A. *C. macrocarpum*. B. *C. molle*. Obsérvese el parénquima en empalizada hacia ambas epidermis de la hoja en ambas especies. Epidermis adaxial (ead), epidermis abaxial (eab) y parénquima en empalizada (pp).

Un fenómeno frecuentemente observado en ambas especies de *Centrosema* sometidas a déficit hídrico fue el de orientar los tres folíolos de la hoja casi verticalmente en dirección paralela a la luz, en horas del mediodía. Esto también fue observado en las parcelas CR, pero en menor grado.

2. TALLO

Las muestras de tallo de las dos especies bajo estudio presentaron caracteres histológicos similares, los cuales se mencionan a continuación:

En la sección transversal, de afuera hacia adentro se evidencia (Figs. 12A, 12C, 13A, 13C) la epidermis uniestratificada revestida por cutícula, constituida por células cuadrangulares pequeñas, de pared celular delgada, y abundantes tricomas. La corteza presentó de seis a siete estratos de células parenquimáticas, isodiamétricas y con abundantes cloroplastos, las cuales limitan internamente con tres a cuatro capas de células esclerenquimáticas (fibras) alrededor del tejido conductor, las cuales forman un anillo continuo. El floema secundario fue evidente como una banda estrecha; el cambium vascular presentó de dos a tres capas de células alargadas periclinalmente y, el xilema secundario se observó como un anillo con vasos solitarios o múltiples, agrupados en 3-4 filas, las cuales alternan con los otros tipos celulares de dicho tejido; en la zona que limita con la médula se observaron células del xilema primario. Esta última región se encuentra constituida

por células parenquimáticas, isodiamétricas, relativamente grandes y con pocos espacios intercelulares

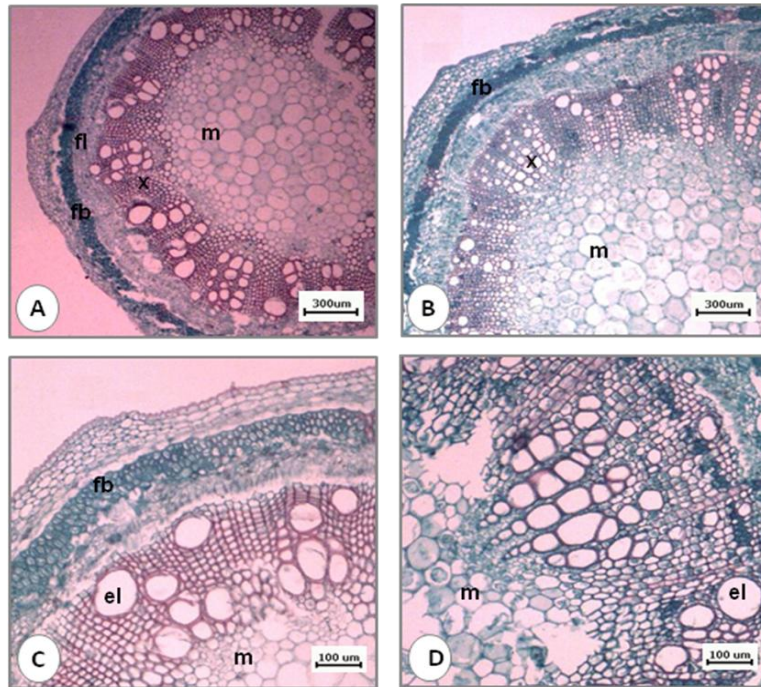


Fig. 12. Secciones transversales del tallo de *Centrosema macrocarpum*. A y B. Tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. C y D. Detalles del xilema para los tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. Epidermis (e), vaso (el), xilema (x), floema (fl), cambium vascular (cv), fibras (fb) y parénquima medular (m).

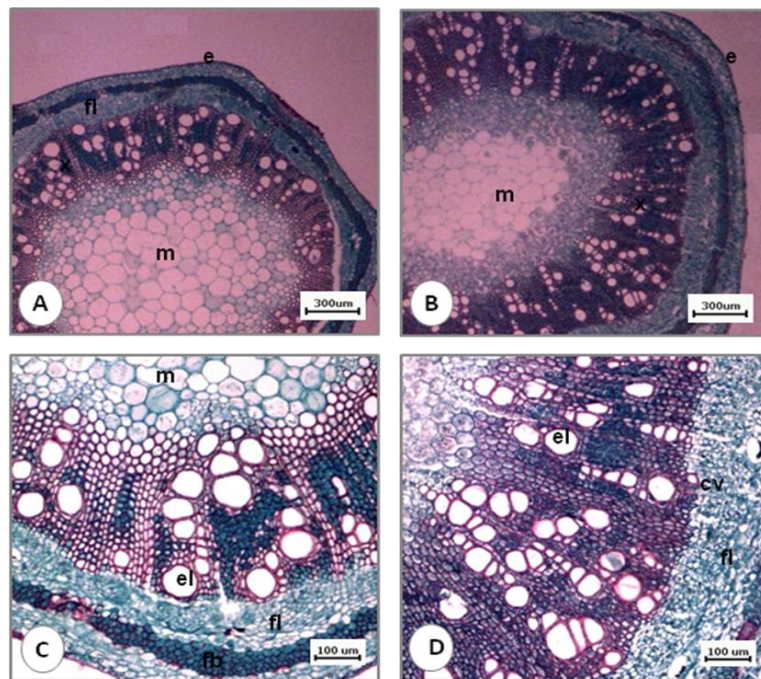


Fig. 13. Secciones transversales del tallo de *Centrosema molle*. A y B. Tratamientos con riego y sin riego, respectivamente. C y D. Detalles del xilema para el tratamiento con riego y sin riego, respectivamente. Epidermis (e), vaso (el), xilema (x), floema (fl), cambium vascular (cv), fibras (fb) y parénquima medular (m).

El crecimiento de ambas especies bajo condiciones de poca disponibilidad de agua originó cambios en las características anatómicas del tallo, resultando en mayor grosor de la epidermis, más capas de células esclerenquimáticas presentándose de cuatro a ocho capas, y de tres a siete filas de vasos en el tejido xilemático (Figs. 12B, 12D, 13B, 13D). Otros cambios serán analizados a continuación.

2.1. Espesor de la corteza, de los tejidos vasculares y diámetro de la médula

Aunque en el espesor de la corteza, del xilema, del floema y diámetro de la médula no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos de cada especie bajo estudio, estas variables mostraron los valores más bajos en el tratamiento sin riego (Cuadro 3, Fig. 14). El espesor de la corteza se vio afectado por dicha condición, presentando una disminución de 8% en la especie *C. macrocarpum* y 19% en *C. molle*; asimismo, el grosor del floema mostró una reducción del 9% y 16% respectivamente, y el espesor del xilema también se redujo por efecto de tratamiento de sequía, 16% en *C. macrocarpum* y 26% en *C. molle*. En cuanto al diámetro de la médula, la especie *C. macrocarpum*, presentó una reducción de 1%, mientras que en *C. molle* este tejido disminuyó 22% bajo condiciones de déficit hídrico.

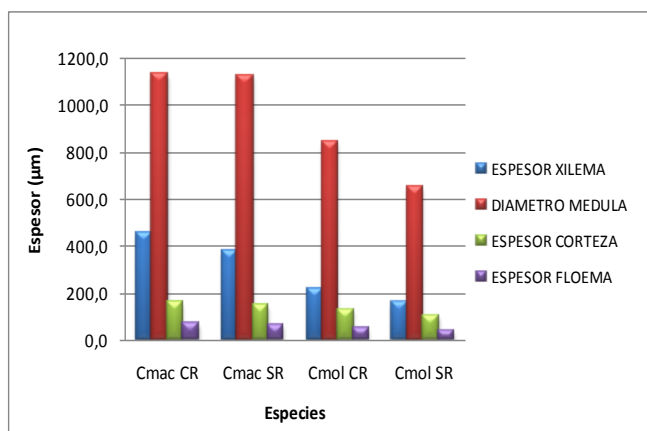


Fig. 14. Espesor de la corteza, de los tejidos vasculares y diámetro de la médula en tallos de las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

Cuadro 3. Valores promedio de algunas variables anatómicas del tallo de *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	ESP_CORT (μm)		ESP_FLO (μm)		ESP_XIL (μm)		DI_MED (μm)	
	CR	SR	CR	SR	CR	SR	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	169,9 a	155,84 a	70,11 a	64,17 a	454,17 a	381,25 a	1137,9 a	1130,32 a
<i>C. molle</i>	128,44 a	104,17 a	50,94 a	42,61 a	217,3 a	160,3 a	845,84 a	657,09 a
CM Tratamiento	104,19	0,6013	5,74	0,6872	24025,8	0,06	177473	0,1232
DMS Tratamiento	41,6101		12,711		155,522		235,129	

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego. Espesor corteza (ESP_CORT), espesor floema (ESP_FLO), espesor del xilema (ESP_XIL) y diámetro de médula (DI_MED).

2.2. Características de los elementos de los vasos

En el diámetro de los vasos se observaron valores más bajos como una respuesta a la condición de sequía, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en ambas leguminosas forrajeras, notándose una reducción en el diámetro de 37% en *C. macrocarpum* y 35% en *C. molle* (Fig. 15). De igual manera sucedió con la longitud de los elementos del vaso, la cual disminuyó en el tratamiento sin riego (Cuadro 4, Fig.16) en ambas especies de *Centrosema*. Sin embargo, el análisis estadístico solo mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en *C. macrocarpum*, cuya disminución fue de 123,33 μm , mientras que en *C. molle* dicha reducción fue de 64,58 μm .

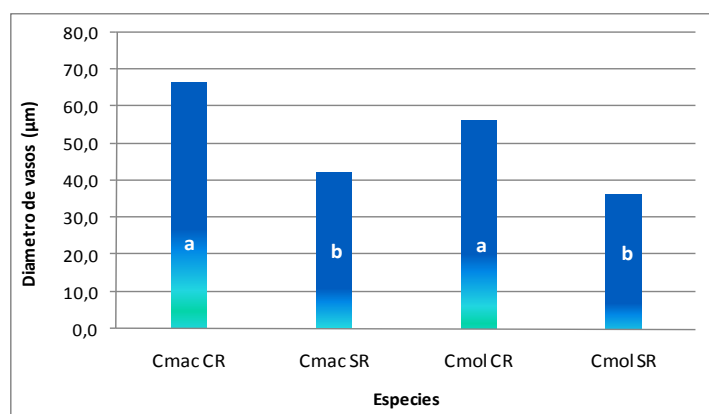


Fig. 15. Diámetro de los vasos en tallos de las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función del tratamiento de riego, con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

Cuadro 4. Valores promedio de algunas variables anatómicas del xilema secundario en tallos de *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	DIA_VAS (μm)		L_VAS (μm)		DE_VAS (N° vasos/ mm^2)	
	CR	SR	CR	SR	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	66,78 a	42,19 b	698,75 a	575,42 b	74,85 b	142,83 a
<i>C. molle</i>	56,25 a	36,36 b	245 a	180,42 a	89,08 b	188,33 a
CM Tratamiento	22	0,3515	3451,3	0,3022	977,97	0,1854
DMS Tratamiento	10,5367		118,5		48,1416	

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego. Diámetro de vasos (DIA_VAS), longitud de vasos (L_VAS) y densidad de vasos (DE_VAS).

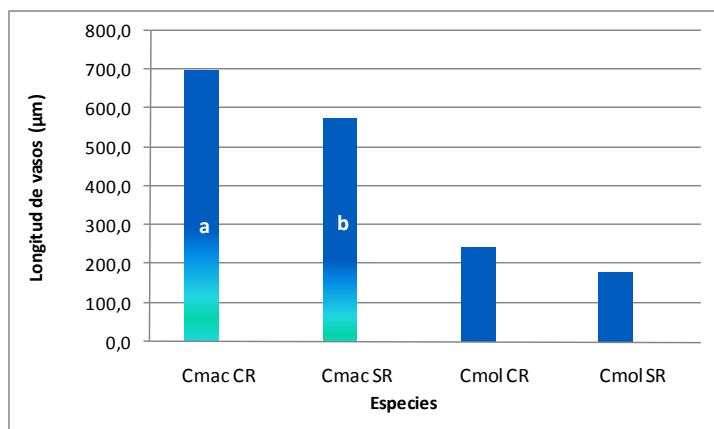


Fig. 16. Longitud de los vasos en tallos de las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

En cuanto a la densidad de vasos, el análisis estadístico generó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos en las especies estudiadas, observándose un aumento en el tratamiento sin riego en las dos especies, siendo *C. molle* la que presentó el valor más alto, 188,3 μm (Cuadro 4, Fig. 17), representando 111% de incremento; mientras que en la leguminosa *C. macrocarpum* dicho aumento fue de 91%.

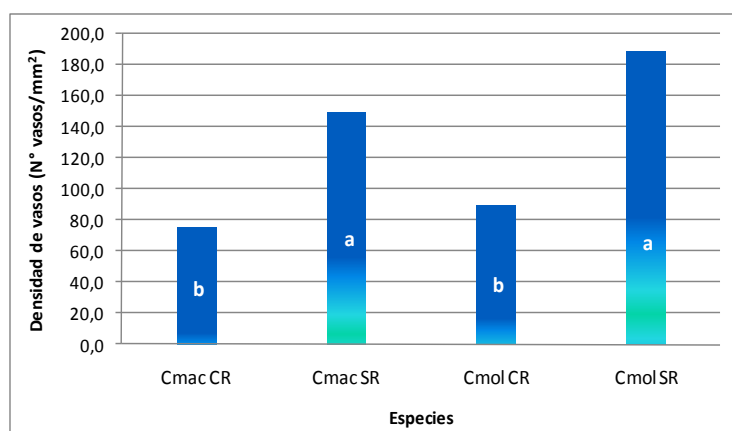


Fig. 17. Densidad de vasos en las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos, con riego (CR) y sin riego (SR). Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

Las dos especies leguminosas presentaron engrosamientos de la pared celular de los elementos del vaso de tipo punteado y reticulado en el tratamiento con riego, mostrando tanto la especie *C. macrocarpum* como *C. molle* 87,5% tipo punteado y 12,5% tipo reticulado (Cuadro 5). Sin embargo, el análisis estadístico arrojó diferencias altamente significativas ($p < 0,05$) para el tratamiento sin riego en

ambas leguminosas, del total de los elementos de vasos observados en la especie *C. macrocarpum* 41,7% presentaron engrosamientos de tipo punteado, 29,17% tipo anillado, 25% tipo helicoidal y 4,2% reticulado, evidenciándose que esta leguminosa presentó los cuatro tipos de engrosamientos de la pared. En el caso de la especie *C. molle*, ésta mostró para el mismo tratamiento, 62,5% tipo punteado y 37,5% anillado (Fig. 14). Ambas leguminosas forrajeras presentaron elementos del vaso con placa de perforación simple en los dos tratamientos con riego y sin riego (Figs. 15 y 16).

Cuadro 5. Proporción de tipos de engrosamientos presentes en los elementos del vaso de las especies *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

ENGROSAMIENTO EV									
Especie	SP	%	SR	%	SA	%	SH	%	Total
<i>C. macrocarpum</i> SR	10,4	41,7	1,0	4,2	7,3	29,2	6,3	25	25
<i>C. macrocarpum</i> CR	21,9	87,5	3,1	12,5	0,0	0	0	0	25
<i>C. molle</i> SR	15,6	62,5	0,0	0	9,4	37,5	0	0	25
<i>C. molle</i> CR	21,9	87,5	3,1	12,5	0,0	0	0	0	25
Total	69,8		7,3		16,7		6,3		100

Valor Ji cuadrado (χ^2): 43,417 ($p < 0,000$). Engrosamiento punteado (SP), engrosamiento reticulado (SR), engrosamiento anillado (SA) y engrosamiento helicoidal (SH).

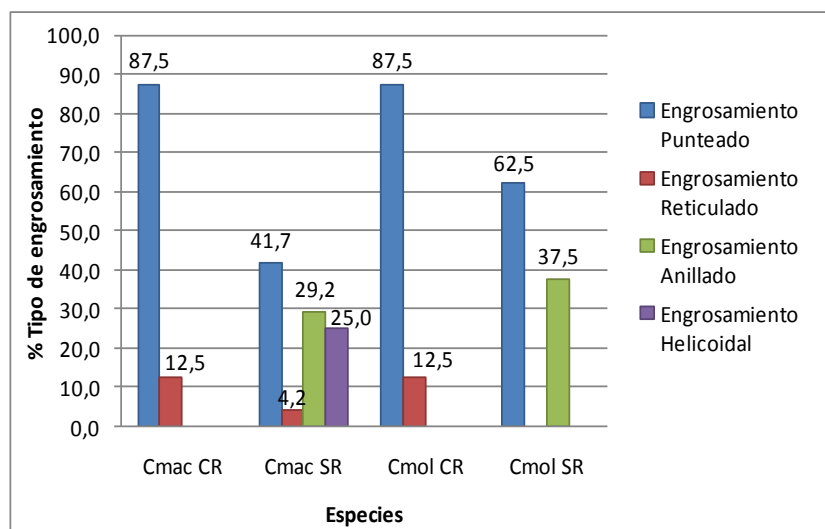


Fig. 18. Proporción de los elementos del vaso con diferentes tipos de engrosamiento en sus paredes, en los tallos de las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función de los tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

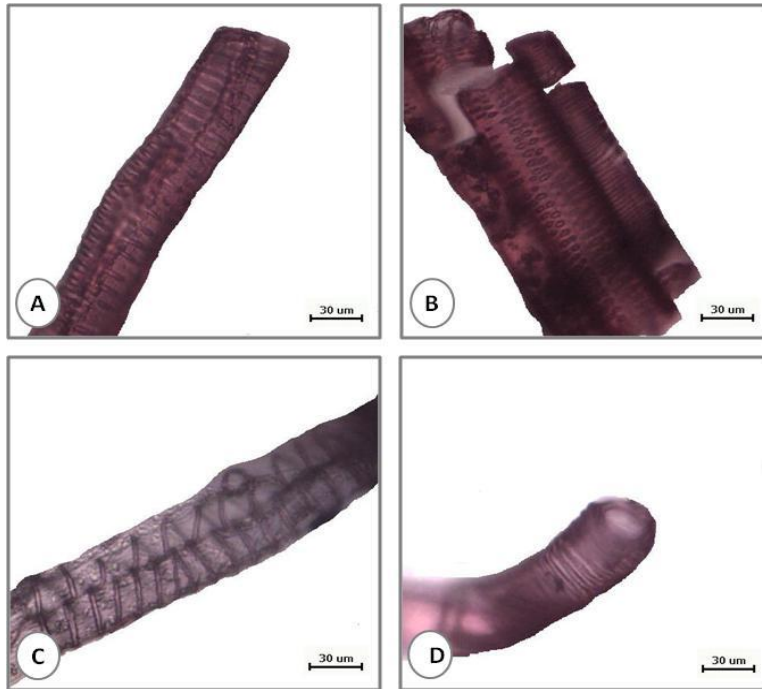


Fig. 19. Tipo de engrosamiento en las paredes de los elementos del vaso, en tallos de *Centrosema macrocarpum*. A. Reticulado, tratamiento con riego. B. Punteado y anillado, tratamiento sin riego. C. Helicoidal, tratamiento sin riego y D. Anillado y placa perforada simple, tratamiento sin riego.

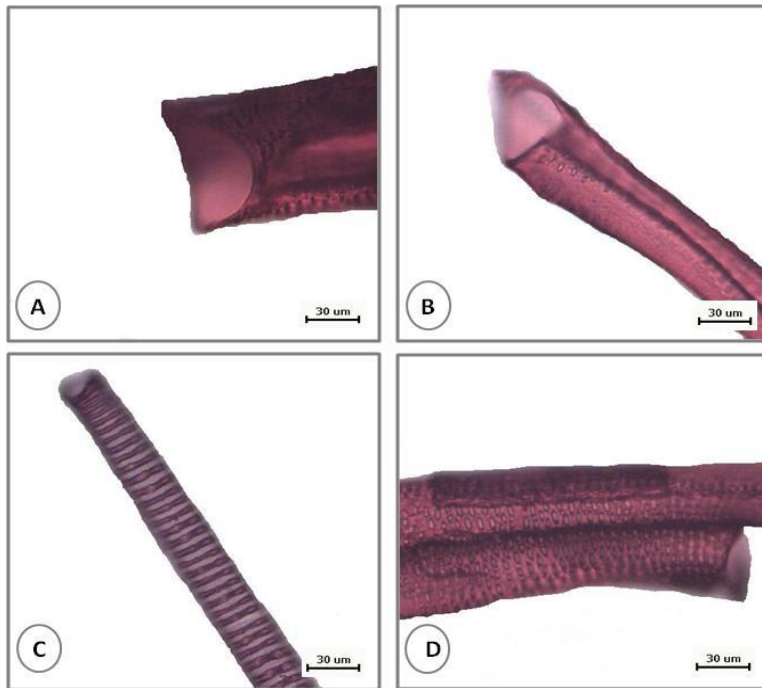


Fig. 20. Elementos del vaso en *Centrosema molle*. A y B. Obsérvese placa perforada simple, tratamiento con riego y sin riego. C. Con engrosamiento secundario anillado, tratamiento sin riego. D. Con engrosamiento secundario punteado, tratamiento con riego.

2.3. Índice de vulnerabilidad (IV) y mesomorfía (IM)

En el índice de vulnerabilidad el análisis estadístico mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) por efecto de tratamiento en ambas especies, sin embargo, en el índice de mesomorfía solo se evidenció diferencias significativas ($p < 0,05$) en la especie *C. macrocarpum* (Cuadro 6). Estos índices indican que la leguminosa *C. molle* presenta un IV menor a 1 en los tratamientos con riego y sin riego; mientras que su IM en el tratamiento con riego se ubicó en la zona ambigua del intervalo de clasificación propuesto por Carlquist (1977); por otra parte, en el tratamiento sin riego presentó un valor inferior a 75. En el caso de *C. macrocarpum* bajo riego se obtuvo un IV mayor a 1 y un IM superior a 200; no obstante, en el tratamiento sin riego en esta especie disminuyeron los valores de ambos índices.

Cuadro 6. Índices de vulnerabilidad y mesomorfía en tallos de *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	IV		IM	
	CR	SR	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	1,01 a	0,32 b	683,73 a	182,52 b
<i>C. molle</i>	0,67 a	0,21 b	161,95 a	37,95 a
CM Tratamiento	0,05	0,1042	142291	0,0017
DMS Tratamiento	0,28399		188,72	

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego. Índice de vulnerabilidad (IV) e índice de mesomorfía (IM).

3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Se efectuó un análisis de componentes principales con el fin de sintetizar la información y explorar la respuesta de ambas especies con respecto a las variables evaluadas tanto en tallo como en hoja, siendo éste más riguroso en la discriminación de las variables que el ANAVAR (Fig. 21). El análisis mostró en este caso, que los primeros dos componentes principales explican el 73% de la varianza total observada en el estudio anatómico caulinar y foliar de las dos especies de *Centrosema*. Los coeficientes de las variables para definir cada componente están resumidos en el cuadro 7.

El Componente Principal 1 con el 44% de la varianza explicada presentó la mayor correlación en las siguientes variables (organizadas de mayor a menor), en tallo: longitud de vasos, diámetro de la médula, espesor del xilema, del floema y de la

corteza; en hoja: espesor del parénquima esponjoso, de la lámina foliar y del mesofilo, así como de la densidad de tricomas abaxial, densidad estomática adaxial y largo de células del parénquima en empalizada.

En el CP2 con el 29% de la varianza explicada, la mayor correlación se produjo en las siguientes variables: espesor de la epidermis adaxial y abaxial, diámetro y densidad de vasos, ancho de las células del parénquima en empalizada, densidad de tricomas adaxial, de estomas abaxial y espesor del parénquima esponjoso.

En ambos componentes (CP1 y CP2) existen cinco variables que presentaron alta correlación: espesor de la lámina foliar y de la epidermis adaxial, diámetro y densidad de vasos y densidad de tricomas abaxial, lo cual indicaría que en ambas especies, estas variables pueden ser usadas como referencia para ver el comportamiento ante condiciones de déficit hídrico.

Cuadro 7. Matriz de coeficientes y contribuciones de las variables en los dos componentes principales seleccionados en el estudio de caracteres anatómicos en las dos especies de *Centrosema*.

Variables	CP 1	CP 2	Variables	CP 1	CP 2
L_VASOS	0,96	-0,07	DIAM_VASOS	0,49	-0,77
ESP_XILEMA	0,94	-0,09	ANCH_PE	0,45	-0,6
ESP_FLOEMA	0,89	-0,19	DIAM_DENS	0,43	-0,78
ESP_PESP	0,88	0,37	D_TRICADAX	0,39	0,6
ESP_CORT	0,86	-0,17	ESP_PE	0,33	0,71
DIAM_MEDULA	0,84	-0,12	ESP_EPAB	0,3	0,74
ESP_LFOL	0,67	0,52	D_ESTOMABAX	-0,29	0,59
ESP_MESOF	0,65	0,47	D_VASOS	-0,43	0,74
D_TRICABAX	0,62	0,57	LARG_PE	-0,56	0,44
ESP_EPAD	0,53	0,79	D_ESTOMADAX	-0,93	0,18
Correlación cofenética= 0,977					

Al parecer la especie *C. macrocarpum* en condiciones de déficit hídrico (SR) tiende a presentar notables modificaciones anatómicas en diferentes variables foliares: espesor de la lámina foliar, del parénquima en empalizada, del parénquima esponjoso, del mesofilo y de ambas epidermis, así como en la densidad de tricomas adaxial y abaxial. Mientras que en la especie *C. molle* en condiciones de déficit hídrico se modifican menor número de variables, pero asociadas a hojas y tallos: densidad de estomas tanto en la epidermis abaxial como en la adaxial y longitud de las células del parénquima en empalizada, además de la densidad de vasos en el tallo.

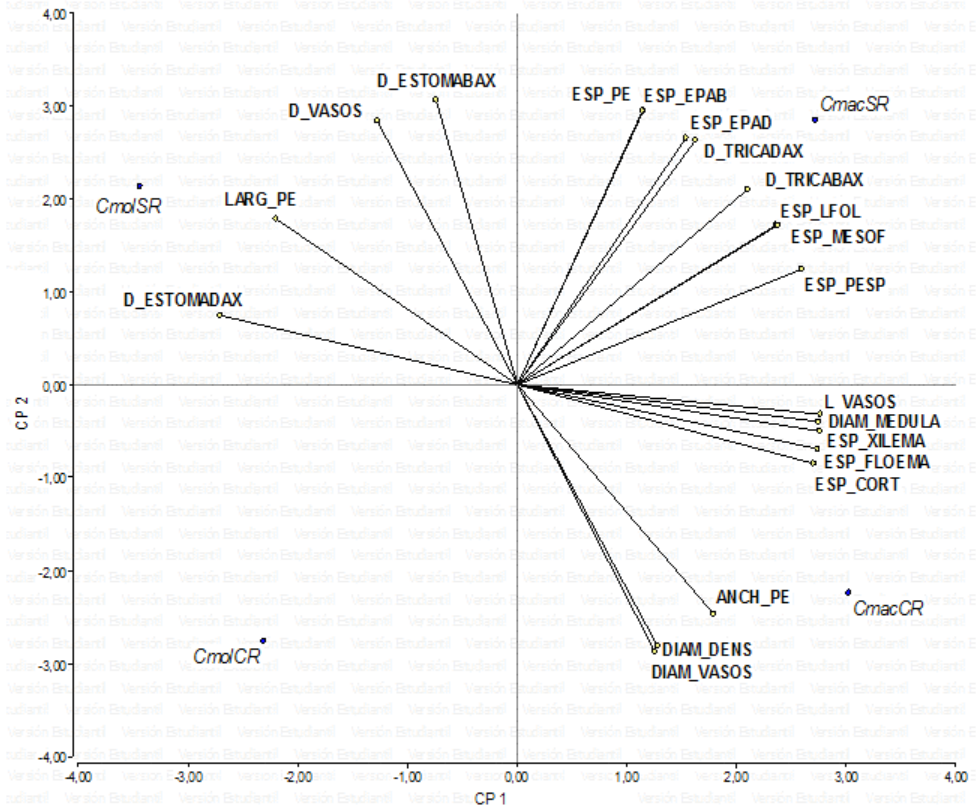


Fig. 21. APC en hoja y tallo de las especies *C. macrocarpum* (Cmac) y *C. molle* (Cmol) en función del tratamiento de riego, con riego (CR) y sin riego (SR). Espesor epidermis adaxial (ESP_EPAD), espesor epidermis abaxial (ESP_EPAB), espesor lamina foliar (ESP_LFL), espesor mesofilo (ESP_MESO), espesor parénquima en empalizada (ESP_PE), espesor parénquima esponjoso (ESP_PESP), largo de las células del parénquima en empalizada (LA_PE), ancho de las células del parénquima en empalizada (AN_PE), densidad de estomas de la epidermis adaxial (D_ESTADAX), densidad de estomas de la epidermis abaxial (D_ESTABAX), densidad de tricomas de la epidermis adaxial (D_TRICADAX) y densidad de tricomas de la epidermis abaxial (D_TRICABAX), Diámetro de vasos (DIA_VAS), densidad de vasos (DE_VAS), longitud de vasos (L_VAS), espesor corteza (ESP_CORT), espesor floema (ESP_FLO), espesor del xilema (ESP_XIL) y diámetro de médula (DI_MED).

4. VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

Las mediciones de área foliar presentaron una disminución de 26,38% en la especie *C. macrocarpum* mientras que en *C. molle* esta aumento por efecto de tratamiento 35,2% (Cuadro 8).

Cuadro 8. Valores promedio del área foliar en *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

ESPECIE	Área foliar (cm ²)	
	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	213,89	157,46
<i>C. molle</i>	64,37	87,08

No se efectuó análisis estadístico en los datos de área foliar total.

Al determinar la conductividad hidráulica teórica del xilema se encontraron diferencias significativas, presentando ambas especies una disminución en dicha variable en el tratamiento sin riego, *C. macrocarpum* con 14,87% y *C. molle* 17,70% (Cuadro 9).

Cuadro 9. Valores promedio de la conductividad hidráulica teórica en *C. macrocarpum* y *C. molle* sometidas a tratamientos con riego (CR) y sin riego (SR).

Conductividad hidráulica teórica (Kh, m4 MPa-1 s-1)		
Especie	CR	SR
<i>C. macrocarpum</i>	6,7873E-13 a	1,0092E-13 b
<i>C. molle</i>	3,1924E-13 a	0,56523E-13 b

Medias con letras distintas denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre condiciones de riego.

De acuerdo a los datos obtenidos por Guenni (2014), el área foliar específica (AFE) en la especie *C. macrocarpum* se mantuvo prácticamente sin variaciones a lo largo del ensayo, mientras que en *C. molle* ocurrió un comportamiento similar; no obstante a los 15 y 30 días de suspensión del riego, se produjo un incremento de 17 y 30% respectivamente en las hojas del tratamiento SR en comparación con las hojas CR. En cuanto al potencial hídrico (Ψ_1) y contenido relativo de agua (CRA) el efecto negativo del déficit hídrico fue relativamente más marcado en *C. molle*, presentando una reducción en el Ψ_1 de 430% (de -0,3 a -1,6 MPa) y en el CRA de 18% (de 85 a 75%). Sin embargo, en *C. macrocarpum* la disminución del Ψ_1 fue de 60% (de -0,25 a -0,40 MPa) y del CRA de 7% (de 81 a 75%).

DISCUSIÓN

1. HOJA

El arreglo histológico de la lámina foliar en los dos taxones estudiados (*C. macrocarpum* y *C. molle*) resultó similar entre ellos, pero con algunas diferencias respecto a *Centrosema venosum*, particularmente por la presencia en esta última de abundante tejido esclerenquimático (Jáuregui, 2011). Los resultados de esta investigación indican que el déficit hídrico indujo cambios en la anatomía foliar de las especies de *Centrosema*, provocando un incremento en el espesor de todos los tejidos de la hoja, aunque en algunos casos no significativo estadísticamente.

Uno de los caracteres resaltante en las dos leguminosas bajo el tratamiento sin riego fue el incremento en el espesor de las epidermis, además de la presencia en la epidermis adaxial de células globosas. Dicho incremento, puede asociarse con células más voluminosas, probablemente reservantes de agua. Resultados similares fueron obtenidos por Stolf *et al.* (2009), en el cultivar BR16 de soya *Glycine max* (L.) Merr., sensible a la sequía y también en el cv. Nazlikan de esta misma especie (Makbul *et al.*, 2011) pero contrastan con los referidos por Wilson *et al.* (1980) en cuatro especies tropicales, *Panicum maximum* Jacq. var. *Trichoglume* Robyns, *Heteropogon contortus* (L.) P.Beauv. ex Roem. & Schult., *Cenchrus ciliaris* L. y *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urb., donde hubo una disminución en el grosor la epidermis abaxial, a pesar de que el análisis estadístico no mostró diferencias significativas. Igualmente, Sankar *et al.* (2013) señalan la disminución en el grosor de este tejido en *Arachis hypogaea* L. bajo condiciones de sequía. Por otra parte, Oertli *et al.* (1990), indicaron que el tamaño pequeño de las células epidérmicas contribuye significativamente a prevenir el colapso celular en condiciones áridas.

El aumento de la densidad estomática en ambas superficies de la hoja en las dos especies de *Centrosema*, concuerda con los resultados obtenidos por otros autores trabajando con déficit hídrico; entre ellos se pueden citar: Boughalleb *et al.*

(2014) en plantas de *Astragalus gombiformis* Pomel., Matos (1992) en cuatro cultivares de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), Bresta *et al.* (2011) en trigo (*Triticum turgidum* L. var. *Durum*), Laajimi *et al.* (2011) en albaricoque (*Prunus armeniaca* L.) y Sam *et al.* (2000) en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Inca 9). Los estomas tienen una función esencial en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, especialmente en la regulación de la pérdida de vapor de agua e ingreso de CO₂. El aumento en la densidad de estomas se ha asociado con el incremento de la capacidad de las plantas para capturar CO₂ de la atmósfera y por lo tanto, aumentar la eficiencia fotosintética debido a la mayor fijación de este gas (Castro *et al.*, 2009). Xu & Zhou (2008) y Castro *et al.* (2009) han vinculado la adaptación de las plantas a la sequía con un incremento de la densidad de estomas y la disminución en el tamaño de los mismos, para que haya una menor pérdida de agua por transpiración, contribuyendo así con el equilibrio en el intercambio gaseoso.

En el presente trabajo se observaron estomas en la epidermis de ambas superficies de la hoja. Según Mott *et al.* (1982), las hojas anfiestomáticas tienen una capacidad potencialmente más alta para la captura de dióxido de carbono y podrían alcanzar niveles elevados de fotosíntesis si las condiciones fueran adecuadas. Una ventaja de la distribución de estomas en ambos lados de la superficie de la hoja es el doble de la conductancia en la capa límite, por lo tanto, las hojas anfiestomáticas podrían ser favorables en ambientes donde la tasa fotosintética podría ser potencialmente limitada por baja conductancia en la hoja, como puede ser el caso de hojas expuestas a alta irradiación (Branco & Marengo, 2012).

El aumento de la densidad de tricomas tanto en la superficie adaxial como abaxial (esta última en mayor proporción) en las dos leguminosas forrajeras, pudiese estar incrementando la reflectancia, reduciendo la energía absorbida, disminuyendo la temperatura foliar y evitando una posible desecación de los tejidos (Silva & Acevedo, 1984). Adicionalmente, se ha indicado que los pelos incrementan la capa límite, la cual ayuda a disminuir el movimiento del aire en la superficie del

foliolo (Jones, 1992; Ely & Torres, 2003). Los apéndices epidérmicos crean relieve en las superficies de las hojas en donde queda estacionado el vapor de agua producto de la evapotranspiración; el grosor de esta micro-región puede aumentar o disminuir dependiendo del tipo, densidad y tamaño del apéndice epidérmico, lo que determinará la cantidad de vapor de agua que quedará atrapada y, por tanto, la capacidad para amortiguar los cambios de temperatura en la superficie foliar fuente. Según Fahn (1986) y Wagner (1991) los pelos glandulares regulan la transpiración si excretan aceites esenciales, ya que se puede crear una capa de aire más densa en la superficie de la hoja, que impide la difusión del vapor de agua; no obstante, se desconocen los productos secretados por los tricomas de este tipo, presentes en *Centrosema*. En *Betula pendula* Roth sometida a estrés hídrico, se encontró un incremento en la densidad de tricomas glandulares en la epidermis abaxial, lo cual soporta la hipótesis de que este tipo de tricomas o sus exudados disminuyen la transpiración directa. Indican además que el grupo de los triterpenoides puede disminuir la permeabilidad de la capa cuticular abaxial debido a su naturaleza lipofílica (Thitz *et al.*, 2017). Incrementos en la cantidad de tricomas por unidad de área foliar también se han reportado en otras especies sometidas a déficit hídrico como: *Manihot esculenta* Crantz (Matos, 1992) y *Olea europaea* L. (Bosabalidis & Kofidis, 2002).

La reducción del área foliar y el aumento en el espesor de la lámina, son estrategias de adaptación muy difundidas en las plantas xerófitas, las cuales se atribuye principalmente al estrés hídrico y a la alta intensidad lumínica propias de ambientes áridos y secos (De Micco & Aronne, 2012). No se puede concluir al respecto, ya que en este trabajo se determinó área foliar de unas hojas en particular, pero es probable que *C. macrocarpum* utilizó dichas estrategias para mitigar los efectos adversos de la baja disponibilidad hídrica; sin embargo, el comportamiento fue diferente en *C. molle*, debido a que en esta especie ambas variables aumentaron. En plantas de dos cultivares de soya-*Glycine max*, Conquista y BR16, tolerantes y sensibles a la sequía respectivamente, el área foliar de las plantas del cv. Conquista sometidas a déficit hídrico por 30 días, se redujo en un 28%, mientras que en BR16 se redujo en un 38% (Stolf *et al.*, 2009).

En el estudio realizado por Matos (1992) en cuatro cultivares de yuca (*Manihot esculenta*) se evidenció una disminución del área foliar por efecto de la escasez de agua, mientras que en dos cultivares de aguacate (*Persea americana* Mill.) el estrés hídrico provocó una disminución significativa del grosor de la lámina foliar (Chartzoulakisa *et al.*, 2002).

El mesofilo de los folíolos de ambas leguminosas, presentó una mayor proporción del parénquima en empalizada en el tratamiento sin riego (aunque sin diferencias significativas), esto puede estar asociado a que las células de dicho tejido fueron más largas, además de estar presente en ambas caras de la lámina foliar (hoja isolateral). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Stolf *et al.* (2009) en soya (*Glycine max*), Batista *et al.* (2010) en *Coffea arabica* L. y Mabulwana (2013) también en soya. En plantas de *Lippia turbinata* Gris. desarrolladas en ambientes mésicos y xéricos, las hojas en esta última condición presentaron mesofilo isolateral compacto y mayor proporción de parénquima en empalizada (Andersen *et al.*, 2006). Sin embargo, los resultados de este estudio contrastan con los obtenidos en dos cultivares de aguacate (*Persea americana* Mill.) donde el estrés hídrico provocó una disminución significativa del espesor de casi todos los componentes histológicos del mesofilo, así como del grosor de la lámina foliar, no obstante, en este taxón el parénquima en empalizada también se presentó a ambos lados de la hoja (Chartzoulakisa *et al.*, 2002). En *Astragalus gombiformis* (Boughalleb *et al.*, 2014) también hubo una reducción del espesor del mesofilo y de la lámina foliar. La presencia del mesofilo isolateral compacto, de varias capas de parénquima en empalizada y pocos espacios intercelulares, indica una mayor actividad fotosintética, debida a la fuerte radiación que reciben las dos superficies foliares; el parénquima en empalizada podría contener un mayor número de sitios de fijación de CO₂ (Fahn, 1985). Se ha indicado que la diferenciación de mayor número de capas de parénquima en empalizada y la morfología particular que adoptan sus células está más influenciada por la radiación a la que están expuestas las láminas foliares (Lindorf *et al.*, 1991). El parénquima en empalizada está íntimamente relacionado con la fotosíntesis y un mayor desarrollo de este tejido puede permitir una mayor fijación de CO₂ con una abertura de estomas en

corto espacio de tiempo (Castro *et al.*, 2009) haciendo que la eficiencia del uso de agua aumente por reducir la transpiración (Jones, 1992).

El parénquima esponjoso también presentó una mayor proporción en el tratamiento sin riego en las dos leguminosas, pero en este caso con diferencias significativas entre tratamientos en *C. macrocarpum*. Fahn (1985) indicó que un parénquima esponjoso más grueso podría resultar en una difusión más fácil de CO₂. En plantas de soya (*Glycine max*), el cultivar tolerante (Conquista) incremento el espesor del parénquima esponjoso, mientras que en el sensible (BR16) disminuyo este tejido (Stolf *et al.*, 2009). En otros trabajos realizados en los cultivos soya (Mabulwana, 2013) y maní (Sankar *et al.*, 2013) sometidos a estrés por sequía, también obtuvieron resultados similares, al comparar hojas estresadas con controles (no sometidos a déficit hídrico).

En ambas especies de *Centrosema* se observaron cambios en la posición de los folíolos en mayor proporción cuando las plantas estuvieron sometidas a déficit hídrico. Los folíolos se orientan casi verticalmente en dirección paralela a la dirección de la luz, en horas del mediodía e igualmente ocurre un ligero plegamiento en la lámina de los mismos. Esto también fue observado por Granada (2010) en las especies *C. brasilianum*, *C. macrocarpum* y *C. molle*, y por Guenni (2014) en *C. macrocarpum* y *C. molle*. Los cambios en la orientación de las hojas han sido asociados a alta intensidad lumínica, altas temperaturas y baja disponibilidad hídrica (Yu & Berg, 1994). Este fenómeno ha sido señalado en otras especies de leguminosas como un mecanismo morfológico que contribuye positivamente al manejo del estrés hídrico, reduciendo la transpiración sin afectar la superficie asimilatoria (Sheriff *et al.*, 1986; Bell, 2007). Dicha orientación corresponde al movimiento paraheliotrópico que ocurre en los folíolos, el cual disminuye el impacto de los rayos solares sobre las superficies de la hoja, reduciendo la temperatura de la misma y evitando daños a los fotosistemas (Jones, 1992).

En general, las hojas de las dos especies estudiadas mostraron incremento en el espesor tanto de las epidermis como de los tejidos que conforman el mesofilo y

por ende de la lámina foliar, y a pesar de que no hubo diferencias significativas en la mayoría de las variables analizadas, la tendencia parece ser incrementar el grado de succulencia en esos tejidos. La succulencia es uno de los mecanismos de adaptación que pueden tener algunas especies para adaptarse a ambientes con déficit de agua (Shields, 1951; De Micco & Aronne, 2012).

En resumen, *C. macrocarpum* fue la especie con mayor cantidad de diferencias estadísticamente significativas entre condiciones de humedad disponibles, en especial para caracteres como grosor de la epidermis adaxial y del parénquima esponjoso, y densidad de tricomas en la epidermis abaxial, mientras que en *C. molle*, solo la densidad de estomas en la epidermis adaxial varió entre los tratamientos impuestos, lo que indica que existe una mayor plasticidad fenotípica en la hoja de la primera especie.

2. TALLO

La anatomía, en sección transversal del tallo fue similar en las dos especies bajo estudio, correspondiéndose con descripciones previas hechas en las mismas especies (González *et al.*, 2013), así como en otros taxones de *Centrosema* (Jáuregui, 2011); No obstante, el déficit hídrico provocó algunas alteraciones estructurales, entre ellas, la reducción en el espesor de casi todos los tejidos y cambios en las características de los elementos de los vasos evaluadas.

En este estudio, el grosor de la corteza, del floema, xilema y médula se redujeron por efecto de la sequía estacional. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros investigadores en *Salvia splendens* Sellow ex J.A. Schultes (Burnett *et al.*, 2005), *Triticum aestivum* L. (El-Afry *et al.*, 2012) y *Astragalus gombiformis* Pomel. (Boughalleb *et al.*, 2014) cuando dichas especies estuvieron sometidas a déficit hídrico. Dicha reducción puede deberse a la disminución en el tamaño celular, tal como fue comprobado por Labdelli *et al.* (2014) en el tallo de plantas de trigo (*Triticum durum* Desf.); estos últimos autores refieren que la sequedad del sustrato provocó una reducción de la longitud de las células epidérmicas y el

diámetro de las células parenquimáticas, indicando además que ese tipo de estrés inhibe el crecimiento celular y promueve la pérdida de turgencia de las células.

En las especies examinadas bajo condiciones de baja disponibilidad de agua, la única variable que incrementó fue el tejido esclerenquimático ubicado entre el parénquima cortical y el floema. Estos resultados son similares a los obtenidos en *Manihot glaziovii* Muell (Nassar *et al.*, 2010) y en *Glycine max* (Makbul *et al.*, 2011). Yentür (2003) indicó que el tejido esclerenquimático proporciona una ventaja contra la pérdida de agua, probablemente porque dicho tejido protege las partes más blandas y más vulnerables de las plantas de estiramientos, pesos, presiones y flexiones, los cuales pueden exacerbarse por el déficit hídrico.

La estructura anatómica del tallo en *C. macrocarpum* y *C. molle* se aclimató a la condición de déficit hídrico, con una densidad mayor de vasos agrupados y de menor diámetro y longitud que cuando las plantas crecieron bajo riego. Resultados similares fueron obtenidos en estas mismas especies en un ensayo previo (González *et al.*, 2013). Asimismo, en *Malpighia emarginata* creciendo bajo condiciones xéricas, se observaron numerosos vasos cortos y de diámetro estrecho (Laskowski, 2000). En el caso de plantas de *Glycine max* (Makbul *et al.*, 2011) y *Astragalus gombiformis* (Boughalleb *et al.*, 2014) el diámetro de los vasos disminuyó también por efecto del déficit hídrico.

El diámetro de los vasos es probablemente la variable más importante para garantizar la eficiencia en la conducción de agua, los vasos estrechos son más seguros debido a que al encontrarse en mayor número, los embolismos locales no afectan una parte considerable del tejido de conducción (Baas *et al.*, 1983). De acuerdo con Carlquist (1975) y Montaña-Arias *et al.* (2013), los elementos de vaso de menor diámetro son considerados los más fuertes, a causa del estrechamiento en el lumen del elemento de vaso, aún en aquellos que presentan placa de perforación simple, ya que esto permite resistir grandes presiones y deformaciones relacionadas con las tensiones de la columna de agua.

Para Carlquist (1988), la conducción a través de vasos numerosos con diámetro angosto es más eficiente que la conducción a través de vasos escasos con diámetro amplio. La cavitación de vasos angostos ocasiona menor pérdida de la capacidad de conducción, porque comúnmente se encuentran en grupos o bien, asociados a traqueidas vasculares. En el caso de las especies bajo estudio se observaron agrupados. Aunque el papel funcional del agrupamiento de vasos sigue siendo controvertido, varios científicos han sugerido que la agrupación de vasos es una ventaja, ya que confieren una mayor seguridad en la conducción de agua (Baas & Carlquist, 1985; Carlquist & Hoekman, 1985; Barajas-Morales, 1985) debido a que proporciona caminos alternativos cuando el transporte de agua a través de un vaso está bloqueado por una embolia inducida por la sequía, pasando a través de uno o más vasos funcionales del mismo grupo de vasos (Carlquist, 1984, Tyree *et al.*, 1994, Arx *et al.*, 2013). Esta tendencia también ha sido observada en otras especies, como *Mimosa bahamensis* Benth., *Mimosa hexandra* M.Micheli, *Mimosa leucaenoides* Benth., *Mimosa tejupilcan* R.Grether & A.Martinez-Berna y *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Montaño-Arias *et al.*, 2013), *Mimosa aculeaticarpa* Ortega var. *aculeaticarpa* y *Mimosa luisan* Brandegees (Montaño-Arias *et al.*, 2017). En resumen, el agrupamiento de vasos mejora la conductividad hidráulica y reduce la pérdida potencial de capacidad de transporte de agua asociada con la cavitación.

Considerando las variables evaluadas en este estudio, destaca que del total de los elementos de vasos observados para el tratamiento con riego, ambas especies presentaron la misma proporción de engrosamientos punteados y reticulados. Sin embargo, en el tratamiento sin riego además de estos dos tipos, *C. molle* presentó engrosamiento anillado y *C. macrocarpum* tanto anillados como helicoidales; los cuales ayudan a mantener la integridad del flujo de agua dentro de los vasos durante los períodos de sequía. Gibson (1973, 1996) indicó que estos tipos de engrosamiento en las paredes de los elementos de vasos ofrecen mayor superficie de pared primaria expuesta y en contacto con otras células conductoras o parenquimáticas, por lo que puede mejorar el movimiento del agua. Para Carlquist (1962) ciertos caracteres del xilema primario pueden permanecer en el xilema

secundario (juvenilismo), por la lenta acumulación de la pared secundaria como resultado de la escasez de agua. Este fenómeno de pedomorfosis ha sido observado también en diversos miembros de la sub-familia Cactoideae, las cuales habitan en zonas xéricas y se ha relacionado con mejoras en el transporte de agua, como se señaló antes (Gibson, 1973).

Ambas leguminosas forrajeras presentaron elementos de vasos con placa de perforación simple, por lo que no hay restricción en el paso de agua, implicando una óptima conducción (Moglia & López, 2001b) y un aumento en la conductividad hidráulica; no obstante, su presencia genera mayor vulnerabilidad a los embolismos (Polanco & Grande, 2009). Sin embargo, esta vulnerabilidad es reducida cuando las placas de perforación simple están acompañadas por punteaduras intervasculares alternas que permiten el flujo de agua a los vasos adyacentes y, más aún, cuando éstas son ornamentadas (retienen las burbujas de aire), ya que proporcionan tensión superficial mayor y disminuyen la propagación del émbolo (Jansen *et al.*, 2003; Jansen *et al.*, 2004). Las características de las punteaduras no fueron consideradas en este estudio. Sin embargo, según Wheeler & Baas (1991) las placas perforadas compuestas pueden prevenir la propagación de embolias aéreas reteniendo burbujas de aire, por lo que Marcati *et al.*, (2014) indican que su presencia en los vasos de *Citharexylum myrianthum* Cham., puede ser un contribuyente importante, en ambientes estacionalmente secos.

La anatomía caulinar de las dos especies de *Centrosema* bajo estudio, mostró algunos rasgos que contribuyen a la seguridad en la conducción ante la condición impuesta de déficit hídrico, entre ellos: incremento en el número de vasos cortos y de diámetro menor en el xilema, agrupamiento de los mismos y engrosamientos en las paredes de los elementos de vasos, anillados o helicoidales.

En condiciones de riego, *C. macrocarpum* mostró rasgos mesomórficos; no obstante, la baja disponibilidad de agua provocó cambios a nivel del xilema, promovió el surgimiento de características xeromórficas, que produjeron una disminución en los índices estudiados. No obstante, el leño de *C. molle* presentó

características para asegurar la conducción de agua, a pesar de contar con un IM ubicado en la zona ambigua de la clasificación de Carlquist (1977). En esta especie el estrés hídrico acentuó los rasgos xeromórficos del xilema secundario, por lo que los índices se modificaron alcanzando el IM un valor menor a 75, indicador de xeromorfía. Resultados similares se obtuvieron en plantas de *Malpighia emarginata* sometidas a condiciones de sequía (Laskowski, 2000). En tallos de *Bursera tomentosa* (Jacq.) Tr. & Planch. se reportaron valores bajos del índice de vulnerabilidad indicando que existe una correlación entre la anatomía del xilema y el hábitat (semiárido), es decir, que la madera de la especie es xeromorfa, presentando una gran adaptación a condiciones xerofíticas (Castillo *et al.*, 2005).

Al observar los resultados del análisis de componentes principales (ACP) de las dos especies de *Centrosema* estudiadas se comprueba que *C. macrocarpum* tiene una mayor plasticidad ante el déficit hídrico, debido a que presenta mayores modificaciones anatómicas tanto en hoja como en tallo, de un gran número de variables del total evaluadas en este estudio, lo que hace a esta especie más plástica, aumentando su tolerancia a hábitats extremos como déficits hídricos. Por el contrario, dicho análisis demostró que la especie *C. molle* presenta modificaciones a nivel del tallo que potencialmente la hacen menos vulnerable a condiciones de baja disponibilidad de agua.

3. RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA ANATOMÍA CAULINAR Y FOLIAR CON VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS, Y SU CONTRIBUCIÓN A LA ACLIMATACIÓN AL DÉFICIT HÍDRICO

Las plantas responden al déficit hídrico desarrollando adaptaciones a nivel morfológico, anatómico y fisiológico, que les permiten sobrevivir en condiciones de sequía (Witcombe *et al.*, 2008). Las especies de *Centrosema* evaluadas en este estudio poseen mecanismos de aclimatación que se activaron en respuesta a dicha condición y al desarrollarse progresivamente, se produjeron cambios, los cuales se describen a continuación.

Las respuestas en la variable área foliar de las dos especies forrajeras sometidas a estrés hídrico fueron contrarias (aunque no evaluadas estadísticamente). El comportamiento en *C. macrocarpum* fue el frecuentemente referido en la literatura, ya que las hojas mostraron área foliar menor en el tratamiento bajo déficit hídrico, lo cual puede asociarse con una superficie de transpiración menor y por ende, con mayor cantidad de agua disponible en el suelo para su uso por períodos más prolongados. Se ha indicado que el primer proceso afectado durante la sequía es la tasa de expansión celular, dando como resultado que con el paso del tiempo ocurra la reducción del tamaño de la planta (Blum, 2005). Al disminuir el contenido de agua en la planta, las células pierden turgencia, en consecuencia la expansión celular se detiene y con ello disminuye el crecimiento de las hojas (Potters *et al.*, 2007). Se considera que la disminución efectiva del área foliar es un mecanismo de evasión de algunas especies para reducir la superficie evaporativa, ya que de esa manera se reduce la tasa del uso de agua de la planta y por lo tanto, se conserva o evita la pérdida de agua durante los eventos de estrés hídrico (Kramer, 1983). De igual manera, la reducción del área foliar demuestra la capacidad de las plantas para tolerar y aclimatarse al estrés hídrico impuesto a través de respuestas morfogénicas específicas (Khurana & Singh, 2004).

Por el contrario, el comportamiento de *C. molle* no fue el esperado, ya que incluso el área foliar promedio por folíolo incrementó con la sequía. Se ha indicado que a mayor área foliar se presenta menor control estomático (Sperry *et al.*, 2002), por lo que esta especie estaría más propensa a pérdida de agua por transpiración y en consecuencia se afectarían diferentes procesos, entre ellos la fotosíntesis.

Los valores de área foliar específica (AFE) obtenidos por Guenni *et al.* (2014) no presentaron mayores variaciones, lo que indica que la relación entre el área foliar y su peso no varió con los tratamientos aplicados. Asimismo, los resultados anatómicos indican que no hubo variación significativa en el espesor de las hojas de las dos especies, a pesar de que registró un incremento en el espesor de la lámina foliar, vinculado al aumento en el grosor de los tejidos epidérmico y fundamental. No obstante, dicha variación al parecer no afectó el AFE en ninguna

de las dos especies bajo estudio. Se debe recordar que el AFE es función del contenido de materia seca foliar y del espesor de la hoja.

En las dos leguminosas forrajeras bajo estudio, la conductividad hidráulica teórica del xilema presentó una disminución estadísticamente significativa por efecto del déficit hídrico, lo cual se asocia al diámetro y longitud menor de los vasos del xilema bajo este tratamiento. Esta reducción en la conductividad hidráulica se relaciona con resistencia a la cavitación (formación de burbujas e interrupción del flujo de agua) la cual es importante en la tolerancia a la sequía (Valladares *et al.*, 2004). Reducción en esta variable ha sido señalada en otras especies sometidas a déficit hídrico, entre ellas: *P. vulgaris* (Holste *et al.*, 2006), *Vitis vinifera* L. (Pire *et al.*, 2007) y *Lolium perenne* L. (Holloway-Phillips & Brodribb, 2011). Es de destacar que en *C. molle* la conductividad hidráulica es más baja que en *C. macrocarpum*, aún bajo condiciones de riego, lo cual se vincula con las características anatómicas observadas en el xilema de dicha especie, ya que tiene mayor cantidad de vasos cuyos elementos conductores presentan diámetro y longitud menor, estos rasgos la hacen tolerante a la sequía. Por otra parte, *C. macrocarpum* muestra mayor eficiencia en conducción, pero probablemente es más susceptible a cavitación. No obstante, es necesario explorar más la relación que puedan tener los diferentes tipos de engrosamiento de las paredes de los vasos, ya que en *C. macrocarpum* su susceptibilidad a cavitación se pudiese ver compensada por la mayor proporción de vasos con engrosamientos anillados y espiralados (las implicaciones de este rasgo estructural fueron discutidas en párrafos anteriores). Además, es necesario explorar la conductividad en la hoja, así como los rasgos estructurales del tejido conductor de agua (xilema) en este órgano.

Como se indicó antes, en ambas especies tienden a aparecer rasgos de succulencia en sus hojas, pero probablemente su incremento no fue suficiente para que los valores CRA se mantuvieran constantes. Se ha indicado que valores constantes de esta variable pueden ser explicados por la succulencia por ej. de pseudobulbos en orquídeas, los cuales pueden llegar a almacenar hasta un 95%

del agua de toda la planta (Zotz & Hietz, 2001). El agua contenida en una estructura o tejido de almacenamiento puede ser utilizada para mantener el potencial hídrico alto, realizar la fotosíntesis y evitar el sobrecalentamiento foliar (Zimmerman, 1990). No obstante, el mayor grosor de las hojas de *C. macrocarpum* (mayor succulencia) puede probablemente contribuir a explicar la variación menor observada por Guenni (2014) en el CRA y potencial hídrico de esta especie.

La conductancia estomática y la fotosíntesis responden a cambios en el potencial hídrico y en el contenido relativo de agua en la hoja aun sin pérdida aparente del turgor celular (Collinson *et al.*, 1997; Farooq *et al.*, 2009). Estudios realizados por Guenni (2014) demuestran que en *C. macrocarpum* y *C. molle* se generan dichos cambios; en *C. molle* la conductancia estomática y la fotosíntesis alcanzaron valores mínimos a potenciales hídricos $< -0,7$ MPa y con valores del CRA cercanos a 70%; mientras que en *C. macrocarpum* el efecto del déficit hídrico fue menos severo, mostrando valores críticos de Ψ_1 $-0,4$ MPa y CRA 75%, indicando una relativa mayor sensibilidad en el cierre estomático en esta especie, en comparación con *C. molle*.

Guenni (2014) indicó que *C. macrocarpum* y *C. molle* se pueden clasificar tentativamente como plantas isohídricas, es decir que tienen un control efectivo del cierre estomático vía incremento en la producción de ABA y/o cambios en la conductividad hidráulica, resultando esto en un valor mínimo de potencial hídrico para que ocurra el cierre estomático. Sin embargo, este autor indica que la respuesta de *C. macrocarpum* está más cercana a ser isohídrica que la de *C. molle*, comportándose esta última especie, al final del período de sequía impuesto como no isohídrica. Maseda & Fernández (2006) señalaron que un comportamiento no isohídrico implicaría la formación de vasos de menor diámetro y por ende conductividad hídrica reducida, minimizando los riesgos de embolismo. Estos rasgos (discutidos antes) fueron observados en *C. molle*. Asimismo, se debe destacar que entre los cambios anatómicos observados en esta última especie, estuvo un incremento significativo en el número de estomas por unidad de

superficie foliar adaxial, no obstante, al parecer este incremento no estuvo acompañado de un mecanismo eficiente de control de apertura y cierre estomático. Se ha prestado mucha atención a la identificación de parámetros que intervienen en el cierre estomático; sin embargo, esto no se ha resuelto totalmente, parece que el potencial hídrico foliar y la concentración de ácido abscísico (ABA) desempeñan un papel importante en este control (Tardieu & Davis, 1993).

Se ha indicado que en las especies donde el cierre estomático es muy sensible a pequeños cambios en la presión de vapor del aire y además responde rápidamente a caídas del potencial hídrico, los daños irreversibles causados por muerte en órganos y su efecto negativo sobre el rendimiento pudieran ser menores (Farooq *et al.*, 2009). *C. macrocarpum*, se ve favorecida aparentemente por la presencia de mecanismos morfoanatómicos adicionales de control en la transpiración, ya que experimentó un incremento considerable en la densidad de tricomas de la superficie abaxial, superficie en la que se ubican la mayoría de los estomas. La relevancia de estos apéndices fue discutida antes. Asimismo, en esta especie el grosor del mesofilo de los folíolos fue mayor, por lo que considerando que la resistencia de los espacios intercelulares al intercambio gaseoso es directamente proporcional al grosor del mesofilo (Silva *et al.* 1999), esta especie tendría una ventaja adicional para controlar la pérdida de agua. Se ha indicado además que hojas más gruesas son más eficientes en el uso del agua (Boeger & Wisniewski, 2002).

Guenni (2014) también indicó que las hojas de *C. molle* tienden a marchitarse, mientras que las de *C. macrocarpum* no; el marchitamiento está asociado a pérdida de turgor en las células de los diferentes tejidos vivos que conforman la estructura foliar. No se hicieron determinaciones de venación foliar, pero es posible que las dos *Centrosema* muestren patrones diferentes, que en consecuencia generen variaciones en la irrigación hídrica a lo largo y ancho del folíolo y como resultado el enfriamiento efectivo de las hojas, por ejemplo en *Alvaradoa amorphoides* Liebm. (taxón que soporta sequía) la presencia de

vénulas simples o bifurcadas rematando en traqueidas hacia el margen, aseguran una repartición rápida de agua (Jaramillo-Pérez *et al.*, 2015). En arroz sometido a estrés hídrico, la disminución de la fotosíntesis y de la conductancia hidráulica estuvo relacionada con la disminución en el grosor de las nervaduras principales (Tabassum *et al.*, 2016).

El mantenimiento de la fotosíntesis en *C. macrocarpum* aún a potenciales hídricos más negativos, además de ligarse a su mayor sensibilidad en el cierre estomático, puede vincularse a la presencia de células del parénquima en empalizada 11% más largas que en *C. molle*, propiciando en ellas mayor cantidad de sitios para la fijación de CO₂, lo que conduciría a mantener una mayor eficiencia del proceso fotosintético en condiciones de sequía. Es importante destacar, que en las especies donde el cierre estomático es muy sensible a pequeños cambios en la presión de vapor del aire y además responde rápidamente a caídas del potencial hídrico, los daños irreversibles causados por muerte en órganos y su efecto negativo sobre el rendimiento pudieran ser menores (Farooq *et al.*, 2009).

En consecuencia, las dos *Centrosema* mostraron estrategias anatómicas y fisiológicas diferentes para aclimatarse al estrés hídrico impuesto.

CONCLUSIONES

- El déficit hídrico impuesto produjo cambios en la anatomía foliar en *C. macrocarpum* y *C. molle*, las cuales mostraron un incremento en el espesor de todos los tejidos que conforman la hoja, siendo significativas el grosor de la epidermis adaxial y del parénquima esponjoso, y la densidad de tricomas en la epidermis abaxial de *C. macrocarpum* y, solo la densidad de estomas de la epidermis adaxial de *C. molle*. Al parecer la tendencia es incrementar el grado de succulencia a nivel foliar.
- El estudio anatómico caulinar en las especies de *C. molle* y *C. macrocarpum* muestra claramente que la aclimatación al déficit hídrico resultó en modificaciones anatómicas, específicamente en los elementos del vaso, los cuales disminuyeron su diámetro y longitud, aumentaron su densidad y mostraron tendencia a agruparse y a modificar los engrosamientos a nivel de sus paredes celulares para mejorar la conducción de agua y prevenir el colapso bajo condiciones de déficit hídrico, lo cual tiene un impacto en el uso eficiente del agua por la planta.
- Con este estudio se comprueba que *C. macrocarpum* tiene una mejor respuesta adaptativa ante el déficit hídrico, debido a que presenta mayores modificaciones anatómicas tanto en hoja como en tallo. A través de un enfoque ecofisiológico, la integración de los resultados obtenidos en este trabajo, permite aseverar que la condición de déficit hídrico en el suelo promueve la activación de mecanismos que le permiten a estas especies aclimatarse a la carencia de agua. El comportamiento observado de estas especies, permite confirmar su relativa resistencia al estrés, mediante la combinación de factores de evasión y tolerancia.
- Al relacionar teóricamente las variables anatómicas con las ecofisiológicas, se encontró una correspondencia entre las mismas, la cual ayuda a interpretar el comportamiento de las especies estudiadas ante el déficit hídrico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUSTÍ, M. 2003. Citricultura. Segunda edición. Mundiprensa, España. 423 p.
- ALEMÁN, S., DOMINGUEZ, A., DOMINGUEZ, D., FUENTES, L., MIRANDA, K., PEREZ, Y., PERNIA, B., SOSA, D., SOSA, M. & INFANTE, D. 2010. Estudio anatómico y bioquímico en materiales cubanos y venezolanos de *Phaseolus vulgaris* bajo condiciones de estrés hídrico. Revista de Estudios Transdisciplinarios. Fundación Instituto de Estudios Avanzados 2: 88-99.
- ANDERSEN, A., LUCCHINI, F., MORICONI, J. & FERNÁNDEZ, E. 2006. Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia turbinata* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina). Revista Internacional de Botánica Experimental 75: 137-143.
- ARBONA, V. & GOMEZ-CARDENAS, A. 2008. Hormonal modulation of *Citrus* responses to flooding. Journal of Plant Growth Regulation 27: 241-250.
- ARX, G., KUEFFER, C. & FONTI, P. 2013. Quantifying plasticity in vessel grouping added value from the image analysis tool roxas. International Association of Wood Anatomists Journal 34: 433-445.
- ASCENCIO, J. 2005. Efecto del estrés abiótico sobre la fisiología de malezas y cultivos. Anales de Botánica Agrícola 12: 41-48.
- AZCÓN-BIETO, J. & TALÓN, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Primera edición. MacGraw-Hill. Interamericana de España. Madrid, España. 522 p.
- AZCÓN-BIETO, J. & TALÓN, M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. Segunda edición. MacGraw-Hill. Interamericana de España. Madrid, España. 651 p.
- BAAS, P., WERKER, E. & FAHN, A. 1983. Some ecological trends in vessel characters. International Association of Wood Anatomists Bulletin 4: 141-159.

BAAS, P. & CARLQUIST, S. 1985. A comparison of ecological wood anatomy of the floras of southern California and Israel. *The International Association of Wood Anatomists Bulletin* 6: 349-353.

BABU, R., SAFIULLAH, M., BLUM, A. & NGUYEN, H. 1999. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Science* 39: 150-158.

BARAJAS-MORALES, J. 1985. Wood structural differences between trees of two tropical forests in Mexico. *The International Association of Wood Anatomists Bulletin* 6: 355-365.

BARRETO, M. 1986. Establecimiento y producción de gramíneas y leguminosas forrajeras en Venezuela. En: Pizarro, E. (eds.). *Red internacional de evaluación de pastos tropicales*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali; Colombia. pp: 1982-1985.

BARRIENTOS-PRIEGO, A., BORYS, M., TREJO C. & LÓPEZ-LÓPEZ, L. 2003. Índice y densidad estomática en plántulas de tres razas de aguacatero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26: 285-290.

BARUCH, Z. & FISHER, M. 1991. Factores climáticos y de competencia que afectan el desarrollo de la planta en el establecimiento de una pastura. En: Lascano, C. & Spain, J. (eds.). *Establecimiento y Renovación de Pasturas*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. pp: 103-142.

BATISTA, T., OLIVA, M. & CAMBRAIA, J. 1983. Eficiência no uso da água em leguminosas forrageiras submetidas a déficit hídrico. *Revista Ceres* 30: 463-470.

BATISTA, L., GUIMARÃES, R., PEREIRA, F., RODRIGUES, G. & MAURO DE CASTRO, E. 2010. Anatomía foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. *Revista Ciência Agronômica* 3: 475-48.

BAYOUMI, T., MANAL, H. & METWALI, E. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology* 7: 2341-2352.

BELL, L., WILLIAMS, A., RYAN, M. & EWING, M. 2007. Water relations and adaptations to increasing water deficit in three perennial legumes, *Medicago sativa*, *Dorycnium hirsutum* and *Dorycnium rectum*. *Plant and Soil* 290: 231-243.

BLUM, A. 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential are they compatible, dissonant, or mutually exclusive?. *Australian Journal of Agricultural Research* 56: 1159-1168.

BOEGER, M. & WISNIESKI, C. 2002. Estrutura e teores de nutrientes foliares de seis espécies arbóreas ao longo de un gradiente successional da planície litorânea do estado do Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Botânica* 57: 243-262.

BOSABALIDIS, A. & KOFIDIS, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science* 163: 375-379.

BOUGHALLEB, F., ABDELLAOUI, R., BEN-BRAHIM, N. & NEFFATI, M. 2014. Anatomical adaptations of *Astragalus gombiformis* Pomel. under drought stress. *Central European Journal of Biology* 9: 1215-1225.

BRANCO, M. & MARENCO, R. 2012. Crecimiento, características foliares y estomáticas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) en Amazona Central. *Revista Árvore, Vicososa-MG* 36: 7-16.

BRESTA, P., NIKOLOPOULOS, D., ECONOMOU, G., VAHAMIDIS, P., LYRA, D., KARAMANOS, A. & KARABOURNIOTI, G. 2011. Modification of water entry (xylem vessels) and water exit (stomata) orchestrates long term drought acclimation of wheat leave. *Plant Soil* 347: 179-193.

BRUGGINK, G., SCHOUWINK, H. & COOLEN, E. 1987. Effects of different day and night osmotic pressure of the nutrient solution on growth, water potentials and

osmotic potentials of young tomato plants in soilless culture. *Soiless Culture* 3: 8-19.

BUCHANAN, B., GRUISSEM, W. & JONES, R. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. Cap. 22: Responses to abiotic stresses. American Society of Plant Physiologist Rockville. pp: 1158-1202.

BURNETT, S., PENNISI, S., THOMAS, P. & VAN IERSEL, M. 2005. Controlled drought affects morphology and anatomy of *Salvia splendens*. *Journal American Society Horticultural Science* 130: 775-781.

BUTTERY, B., TAN, C., BUZZEL, R., GAYNOR, J. & MACTAVISH, D. 1993. Stomatal number of soybean and response to water stress. *Plant and Soil* 149: 283-288.

CAÑIZARES, A., SANABRIA, M., RODRÍGUEZ, D. & PEROZO, Y. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia*) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista UDO Agrícola* 3: 59-64.

CARLQUIST, S. 1962. A theory of paedomorphosis in dicotyledons woods. *Phytomorphology* 12: 30-45.

CARLQUIST, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. University of California Press. Berkeley, USA. 259 p.

CARLQUIST, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. *American Journal of Botany* 64: 887-896.

CARLQUIST, S. 1983. Wood anatomy of *Calyceraceae* and *Valerianaceae*, with comments on aberrant perforation plates in predominantly herbaceous groups of dicotyledons. *Aliso* 1: 413-425.

CARLQUIST, S. 1984. Vessel grouping in dicotyledon wood: significance and relationship to imperforate tracheary elements. *Aliso* 10: 505-525.

- CARLQUIST, S. 1988. Tracheid dimorphism: a new pathway in evolution of imperforate tracheary elements. *Aliso* 12: 103-118.
- CARLQUIST, S. & HOEKMAN, D. 1985. Ecological wood anatomy of the woody southern flora. *Journal International Association of Wood Anatomists* 6: 319-347.
- CASTRO, E., PEREIRA, F. & PAIVA, R. 2009. *Histologia Vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos*. Lavras: UFLA, Brasil. 234 p.
- CASTILLO, M., SANABRIA, M., HIDALGO, C. & PEROZO, Y. 2005. Características anatómicas del tallo de bálsamo de incienso (*Bursera tomentosa* (Jacq.)Tr. & Planch.). *Bioagro* 17: 17-23.
- CELLIER, F., CONEJERO, G., BREITLER, J. & CASSE, F. 1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. *Plant Physiology* 116: 319-328.
- CIHA, A. & BRUN, W. 1975. Stomatal size and frequency in soybeans. *Crop Science* 15: 309-313.
- CHAVES, M., MAROCO, J. & PEREIRA, J. 2003. Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30: 239-264.
- CHARTZOULAKISA, K., PATAKASB, A., KOFIDISC, G., BOSABALIDISC, A. & NASTOU, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Horticulturae* 95: 39-50.
- CLEMENTS, R. 1990. *Centrosema* species for semiarid and subtropical regions. In: Schultze-Kraft, R. & Clements, R. (eds.). *Centrosema: biology, agronomy, and utilization*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. pp: 77-97.
- COLLINSON, S., CLAWSON, E., AZAM-ALI, S. & BLACK, C. 1997. Effects of soil moisture deficits on the water relations of bambara groundnut (*Vigna subterranean* L. Verde). *Journal of Experimental Botany* 48: 877-844.

COLOMBO, R., MARTÍN, O., IRAZÁBAL, S. & TEZARA, W. 2007. Relaciones hídricas, fotosíntesis y anatomía foliar de dos especies del género *Calotropis*. *Interciencia* 32: 791-796.

COLMENARES, M., RADA, F. & LUQUE, R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis sericea* a dos altitudes en los altos andes venezolanos. *Plantula* 3: 141-148.

DICKISON, W. 2000. *Integrative plant anatomy*. Academic Press. California, USA. 533 p.

DE MICCO, V. & G. ARONNE. 2012. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. R. In: Aroca, R. (eds.), *Plant responses to drought stress. From morphological to molecular features*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp: 37-61.

DIXON, H. 1914. *Transpiration and the ascent of sap in plants*. Macmillan. London, England. 216 p.

EL-AFRY, M., EL-NADY, M. & ABDELMONTELEB, E. 2012. Anatomical studies on drought-stressed wheat plants (*Triticum aestivum* L.) treated with some bacterial strains. *Acta Biologica Szegediensis* 56: 165-17.

ELY, F. & TORRES, F. 2003. Adaptaciones anatómico-estructurales foliares de *Chaetolepis lindeniana* (Naud.) Triana a lo largo de un gradiente altitudinal en el Páramo del Parque Nacional Sierra Nevada de Mérida (Venezuela). *Plant* 3: 101-115.

ESAU, K. 1985. *Anatomía de las plantas con semilla*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. 135 p.

ESAU, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 240 p.

FAHN, A. 1985. *Anatomía vegetal*. Ed. Piramide. Madrid, España. 599 p.

FAHN, A. 1986. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. *Annals of Botany* 57. 631 p.

- FAHN, D. & CUTLER, D. 1992. Xerophytes. Encyclopedia of plant anatomy XIII. Gebrüder Borntraeger. Berlin. Germany. 177 p.
- FANTZ, P. 2001. *Centrosema*. In: Stevens, W., Ulloa, C., Pool, A. & Montiel, O. (eds.). Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany. Missouri Botanical Garden, San Luis, Missouri. 85: 271-276.
- FAROOQ, M., KOBAYASHI, N., FUJITA, D. & BASARA, M. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
- FISHER, M. & LUDLOW, M. 1982. Response of siratro (*Macroptilum atropurpureum*) to water stress. In: Smith, J. & Hays, W. (eds.). Proc. 14th Int. Grass. Kentucky, USA. pp: 396-398.
- FISHER, M. & LUDLOW, M. 1984. Adaptation to water deficits in *Stylosanthes*. In: Stace, H. & Edey, L. (eds.). The biology and agronomy of *Stylosanthes*. Academic Press. Sydney, Australia. pp: 163-179.
- FLORES-VINDAS, E. 1999. La Planta, estructura y función. Volumen I. Libro Universitario Regional (LUR). Costa Rica. 367 p.
- GARCÍA, M. & JÁUREGUI, D. 2008. Efecto de la salinización con NaCl o Na₂SO₄ sobre la anatomía foliar en dos genotipos de caña de azúcar (*Saccharum spp.*) con tolerancia salina diferencial. *Ernstia* 18: 89-105.
- GIANOLI, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas. EUV Valparaiso, Chile. pp. 13-25.
- GIBSON, A. 1973. Comparative anatomy of secondary xylem in Cactoideae (Cactaceae). *Biotropica* 5: 29-65.
- GIBSON, A. 1996. Structure-function relations of warm desert plants. Springer Verlag. Heidelberg. Alemania. 215 p.

GIBSON, A., CALKIN, H. & NOBEL, P. 1984. Xylem anatomy, water flow and hydraulic conductance in the fern *Cytonium falcatum*. *American Journal of Botany* 71: 564-574.

GODOY, A., XOPIYAXTLE, J., REYES, J. & TORRES, E. 2005. Comportamiento hídrico de hojas y frutos de nogal pecanero y su relación con la calidad y germinación de frutos. *Terra Latinoamerica* 23: 505-513.

GONZALEZ, A., VILLALOBOS, V., PEREYRA, G., RENGIFO, E., MARIN, O. & TEZARA, W. 2009. Comparación ecofisiológica de tres especies del género *Lantana* L. (Verbenaceae). *Acta Botanica Venezuelana* 32: 417-432.

GONZALEZ, M.E., JAÚREGUI, D. & GUENNI, O. 2013. Efecto del déficit hídrico en la anatomía caulinar de dos especies de *Centrosema* Benth. (FABACEAE). *En: Memorias del XX Congreso Venezolano de Botánica*. San Cristóbal, Venezuela.

GRANADA, W. 2010. Respuestas ecofisiológicas al preacondicionamiento por déficit hídrico del suelo y al riego en tres especies de *Centrosema* (DC.) Benth. (Fabaceae, Papilionoideae). Trabajo presentado para optar a la Categoría de Profesor Asistente. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 122 p.

GUENNI, O., BARUCH, Z. & MARÍN, D. 2004. Responses to drought of five *Brachiaria* species. II. Water relations and leaf gas exchange. *Plant and Soil* 258: 249-260.

GUENNI, O., GIL, J., BARUCH, Z., RODRÍGUEZ, I. & TAM, J. 2007. Relaciones hídricas e intercambio gaseoso en una colección de leguminosas forrajeras cultivadas en las sabanas orientales de Venezuela. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)* 1: 348-354.

GUENNI, O., GIL, J., BARUCH, Z., MÁRQUEZ, L. & NÚÑEZ, C. 2006. Respuestas al déficit hídrico en especies forrajeras de *Brachiaria* (Trin.) Griseb (Poaceae). *Interciencia* 31: 505-511.

GUENNI, O. 2014. Mecanismos de persistencia de leguminosas y gramíneas forrajeras perennes ante factores abióticos limitantes. Trabajo de ascenso para optar a la categoría de Profesor Titular. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 149 p.

GUERFEL, M., BACCOURI, O., BOUJNAH, D., CHAIBI, W. & ZARROUK, M. 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Science Horticultural* 119: 257-263.

HOEKSTRA, F., GOLOVINA, E. & BUINTINK, J. 2001. Mechanisms of plants desiccation tolerance. *Trends in Plants Science* 6: 431-438.

HOLSTE, E., JERKE, M. & MATZNER, S. 2006. Long-term acclimatization of hydraulic properties, xylem conduit size, wall strength and cavitation resistance in *Phaseolus vulgaris* in response to different environmental effects. *Plant Cell and Environment* 29: 836-843.

HOLLOWAY-PHILLIPS, M. & BRODRIBB, T. 2011. Minimum hydraulic safety leads to maximum water-use efficiency in a forage grass. *Plant, Cell and Environment* 34: 302–31.

HSIAO, T. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review Plant Physiology* 24: 519-570.

HUANG, X., HUANG, H. & GAO, F. 2000. The growth potential generated in *Citrus* fruit under water stress and its relevant mechanisms. *Scientia Horticulturae* 83: 227-248.

INFOSTAT. 2008. InfoStat, versión 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas. Argentina. 338 p.

ISMAIL, S. 2010. Influence of deficit irrigation on water use efficiency and bird pepper production (*Capsicum annum* L.). *Meteorology Environment Arid Land Agricultural Science* 21: 29-43.

JANSEN, S., BAAS, P., GASSON, P. & SMETS, E. 2003. Vestured pits: do they promote safer water transport?. *International Journal of Plant Sciences* 164: 405-413.

JANSEN, S., BAAS, P., GASSON, P., LENS, F. & SMETS, E. 2004. Variation in xylem structure from tropics to tundra: evidence from vestured pits. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 8833-8837.

JARAMILLO-PÉREZ, A., QUINATANAR-ISAÍAS, A., FRAILE-ORTEGA, M., MARTÍNEZ-BERNAL, A. & SEPÚLVEDA-SÁNCHEZ, D. 2015. Morfoanatomía foliar de *Alvaradoa amorphoides* Liebm. del estado de Morelos, México. *Polibotánica* 40: 79-98.

JÁUREGUI, D. 2011. Anatomía de los órganos vegetativos de *Centrosema venosum* Mart. ex. Benth. (Fabaceae). *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela* 37: 129-136.

JÁUREGUI, D., LAPP, M., CASTRO, M., RUIZ-ZAPATA., T. & TORRECILLA, P. 2014. Estructura anatómica de raíces y tallo de *Gomphrena albiflora* Moq. (Amaranthaceae). *Pittieria* 38: 83-94.

JOHANSEN, D. 1940. *Plant micotechnique*. McGraw Hill. New York, USA. 553 p.

JONES, H. 1992. *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press N.Y. USA. 428 p.

KARAM, G. 2005. Biomechanical model of the xylem vessels in vascular plant. *Annals of Botany* 95: 1179-1186.

KEBEDE, H., MARTIN, B., NIENHUIS J. & JUNG, G. 1994. Leaf anatomy of two *Lycopersicon* species with contrasting gas exchange properties. *Crop Science* 34: 108-113.

KHURANA, E. & SINGH, J. 2004. Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: Impact of seed size. *Journal Tropical Ecology* 20: 385-396.

KORNER, Ch., NEUMAYER, M., PELAEZ MENENDEZ-RIEL, S. & EMEETS-SCHEEL, A. 1989. Functional morphology of mountain plants. *Flora* 182: 353-383.

KRAMER, P. 1980. Drought, stress and the origin of adaptations. In: Turner, N. & Kramer, P. (eds.). *Adaptations of plants to water and high temperature stress*. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. pp: 7-20.

KRAMER, P. 1983. *Water relations of plants*. Academic Press. New York, USA. 489 p.

KRAUSS, E. & ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Seropédica. Rio de Janeiro, Brasil. 198 p.

LAAJIMI, N., BOUSSADIA, O., SKHIRI, F., TEIXEIRA DA SILVA, J., REZGUI, S. & HELLALI, R. 2011. Anatomical adaptations in vegetative structures of apricot tree (*Prunus armeniaca* L.) cv. 'Amor El Euch' growth under water stress. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 5: 46-51.

LABDELLI, A., ADDA, A., HALIS, Y. & SOUALEM, S. 2014. Effects of water regime on the structure of roots and stems of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Botany* 2014: 1-8.

LAMBERS, H., CHAPIN, F. & PONS, T. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer-Verlag. New York, USA. 540 p.

LANDIS, T., TINUS, R., McDONALD, S. & BARNETT, J. 1989. Seedling nutrition and irrigation. Vol. 4. The container tree nursery manual. USDA, Forest Service. The Agric Handbook. 119 p.

LARCHER, W. 1995. Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. Germany. 506 p.

LA ROSA, R., CONTRERAS, J., MENDOZA, A., MACABILCA, Y. & GUTIÉRREZ, A. 2008. Cambios morfofisiológicos de *Ipomoea batata* (L.) Lam. durante el estrés por sequía. Biologist (Lima) 6: 8-12.

LASKOWSKI, L. 2000. Características anatómicas de la hoja y el tallo del semeruco (*Malpighia emarginata*) cultivado en dos localidades del estado Lara. Bioagro 12: 33-40.

LEÓN, W. 2005. Anatomía ecológica del xilema secundario de un bosque seco tropical de Venezuela. Acta Botanica Venezuelica 28: 257-274.

LERNER, H. 1985. Adaptation to salinity at the plant cell level. Plant and Soil 89: 3-14.

LINCOLN, T. & ZEIGER, E. 2006. Fisiología Vegetal. Universitat Jaume-I. Col·leccio, Ciencies experimentals, Num 10. Volumen 2. Sunderland, USA. 1338 p.

LINCOLN, T. & ZEIGER, E. 2002. Water balance of plants. Plant physiology. Tercera edicion, Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA. 782 p.

LINDORF, H., PARISCA, L. & RODRÍGUEZ, P. 1991. Botánica. Clasificación, Estructura y Reproducción. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. 584 p.

LINDORF, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. Journal International Association of Wood Anatomists 15: 361-376.

LINDORF, H. 1998. Correlaciones ecoanatómicas entre la madera y la hoja. Memoria del Instituto de Biología Experimental 1: 209-212.

LONGSTRETH, D., HARTSOCK, T. & NOBEL, P. 1980. Mesophyll cell properties for some C₃ and C₄ species with high photosynthetic rates. *Physiologia Plantarum* 48: 494-498.

LOPUSHINSKY, W. 1990. Seedling moisture status. In: Target Seedling Symposium: Proceedings, combined meeting of the Western forest nursery associations. USDA, Forest Service. Fort Collins, CO. U.S. Gen. Tech. Rep. RM-200. Department of Agriculture, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. 286 p

LUDLOW, M. 1980. Stress physiology of tropical pasture plants. *Tropical Grasslands* 14: 136-145.

LUDLOW, M. 1989. Strategies of response to water stress. In: Kreeb, K., Ritcher, H. & Hinckley, T. (eds.) Structural and functional responses to environmental stresses: water shortage. Le Hague: Academic Publishing. pp: 269-281

LUDLOW, M. & IBARAKI, K. 1979. Stomatal control of water loss in siratro (*Macroptilium atropurpureum* (DC) Urb). a tropical pasture legume. *Annals of Botany* 43: 639-647.

LUDLOW, M., CHU, A., CLEMENTS, R. & KERSLAKE, R. 1983. Adaptation of species of *Centrosema* to water stress. *Australian Journal of Plant Physiology* 10: 119-130.

LUQUE, R., MENEZES, N. & SEMIR, J. 1999. Anatomía foliar de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Asteraceae). *Plantula* 2: 141-152.

LUZARDO, Y. 1986. Manejo de los potreros en Venezuela. Ed. Empasandes S.R.L. Venezuela. 71 p.

MABULWANA, P. 2013. Determination of drought stress tolerance among soybean varieties using morphological and physiological markers. Master of Science on Botany in the Faculty of Science and Agriculture (School of Molecular and Life Sciences). University of Limpopo. Sudáfrica. 83 p.

MAKBUL, S., SARUHAN GÜLER, N., DURMUŞ, N. & GÜVEN, S. 2011. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turk Journal of Botany* 35: 369-377. TÜBİTAK doi: 10.3906/bot-1002-7.

MANSFIELD, T. & ATKINSON, C. 1990. Stomatal behavior in water stressed plants. In: Alscher, R. & Cummin, J. (eds.). *Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms*. Wiley-Liss, Inc. New York. USA. pp: 241-264.

MARCATI, C., LONGO, L., WIEDENHOEFT, A. & BARROS, C. 2014. Comparative wood anatomy of root and stem of *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae). *Rodriguésia* 65: 567-576.

MASEDA P. & FERNÁNDEZ, R. 2006. Stay wet or else: three ways in which plants adjust hydraulically to their environment. *Journal of Experimental Botany* 57: 3963-3977.

MATOS, Y. 1992. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz. *Sitientibus, Feira de Santana* 10: 103-115.

MOGLIA, J. & LOPEZ, C. 2001a. Estrategia adaptativa del leño de *Aspidosperma quebracho-blanco*. *Madera y Bosques* 7: 13-25.

MOGLIA, J. & LÓPEZ, C. 2001b. Tendencias de variación radial del leño en *Aspidosperma* Quebracho Blanco. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 10: 69-79.

MOLINA, S., GUENNI, O. & INFANTE, D. 2009. Genetic variability in a collection of the tropical forage legume *Centrosema molle* Mart. ex Benth. and its association with the climate where they originate in Venezuela. *Revista de Estudios Transdisciplinarios (RET)* 2: 76-83.

MONTAÑO-ARIAS, S., CAMARGO-RICALDE, S. & DE LA PAZ PÉREZ-OLVERA, C. 2013. Ecoanatomía de los elementos de vaso de la madera de cinco especies del género *Mimosa* L. (Leguminosae-Mimosoideae). *Botanical Sciences* 91: 1-10.

MONTAÑO-ARIAS, S., CAMARGO-RICALDE, S., GREYER, R. & DÍAZ-PONTONES, D. 2017. Ecoanatomía de la madera de dos taxa mexicanos del género *Mimosa* (Leguminosae-Mimosoideae). *Acta Botanica Mexicana* 118: 105-120.

MOTT, K., GIBSON, A. & O'LEARY, J. 1982. The adaptative significance of amphistomatic leaves. *Plant Cell Environment* 5: 455-460.

NASSAR, N., ABREU, L., TEODORO, D. & GRACIANO-RIBEIRO, D. 2010. Drought tolerant stem anatomy characteristics in *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) and a wild relative. *Genetics and Molecular Research* 9: 1023-1031.

NOBEL, P. & WALKER, D. 1985. Structure of leaf photosynthetic tissue. In: Barber, J. & Baker, N. (eds.). *Photosynthetic mechanisms and the environment* (Chapter 12). Amsterdam: Elsevier Science. Amsterdam, the Netherlands. pp: 501-536.

OERTLI, J., LIPS, S. & AGAMI, M. 1990. The strength of sclerophyllous cells to resist collapse due to negative turgor pressure. *Acta Oecologica* 11: 281-289.

OEVER VAN DEN, L., BAAS, L. & ZANDEE, M. 1981. Comparative wood anatomy of *Symplocos* and latitude and altitude of provenance. *Journal International Association of Wood Anatomists* 2: 3-24.

OGAYA, R. & PEÑUELAS, J. 2006. Contrasting foliar responses to drought in *Quercus ilex* and *Pillyrea latifolia*. *Biologia Plantarum* 50: 373-382.

OLADELE, F. & DAODU, I. 1988. Stem anatomical indices for suitability of *Gomphrena celosioides* Mart. as a potential revegetation plant. *Nigerian Journal of Botany* 1: 1-4.

ORTUÑO, M., ALARCÓN, J., NICOLÁS, E. & TORRECILLA, A. 2004. Interpreting trunk diameter changes in young lemon trees under deficit irrigation. *Plant Science* 167: 275-280.

PAZ, V., VERA, A. & PÁEZ, A. 2003. Distribución de biomasa de *Barleria lupulina* Lindl. en respuesta a tres regímenes de riego. *Revista Facultad Agronomía* 20: 273-281.

PÉREZ-CUADRA, V. & CAMBI, V. 2010. Anatomía vegetativa comparativa entre Chloridoideae (Poaceae) halófilas de importancia forrajera. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 79: 69-76.

PEREIRA-NETTO, A., NOVAES DE MAGALHÃES, A. & SILVEIRA PINTO, H. 1999. Effects of soil water depletion on the water relations in tropical kudzu. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, Brasilia 7: 1151-1157.

PETERLUNGER, E., BUCCELLA, A. & IACONO, F. 2000. Physiological changes in grapevine during adjustment to water stress: ABA, leaf gas exchanges and root hydraulic conductivity. *Acta Horticulturae* 526: 201-208.

PIMIENTA-BARRIOS, E., CORNEJO, S. & GONZALEZ, M. 2003. Caracterización anatómica y conductividad hidráulica teórica de los elementos de vaso de variedades silvestres y cultivadas de Nopal Tunero (*Opuntia*). *Acta Botánica de México* 62: 21-30.

PIRE, R., SANABRIA, M., PEREIRA, A. & DIEZ, J. 2007. Conductividad hidráulica y grosor de los vasos del xilema en cinco materiales de vid sometidos a déficit hídrico. *INCI* 32: 35-40.

POLANCO, T. & GRANDE, P. 2009. Análisis ecoanatómico, evolutivo y comparativo de la madera de 40 especies de dos asociaciones del bosque alto andino colombiano. *Colombia Forestal* 12: 183-203.

POTTERS, G., PASTERNAK, T., GUISEZ, Y., PALME, K. & JANSEN, M. 2007. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble?. Trends in Plant Science 12: 99-105.

PRESTON, C. 1901. Structural studies on southwestern Cactaceae. Botanical Gazette 32: 35-55.

QUINTAL, W., PÉREZ-GUTIÉRREZ, A., LATOURNERIE, L., MAY-LARA, C., RUIZ, E. & MARTÍNEZ, A. 2012. Uso de agua, potencial hídrico y rendimiento de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Revista Fitotecnia Mexicana 35: 155-160.

RADA, F., GOLDSTEIN, G., AZOCAR, A. & TORRES, F. 1987. Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii*, a caulescent giant rosette species. Journal of Experimental Botany 38: 491-497.

REYES-SANTAMARIA, I., TERRAZAS, T., BARRIENTOS-PRIEGO, A. & TREJO, F. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. Scientia Horticulturae 92: 97-105.

RITCHIE, J. 1981. Soil-plant-atmosphere system. Plant and Soil 58: 81-96.

ROTH, I. 1976. Anatomía de las plantas superiores. Universidad Central de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca. Caracas-Venezuela. 357 p.

SALISBURY, F. & ROSS, C. 1985. Plant physiology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA. 540 p.

SALLEO, S., LO GULLO, M. & OLIVERI, F. 1985. Hydraulic parameters measured in one year old twigs of some mediterranean species with diffuse porous wood: changes in hydraulic conductivity and their possible functional significance. Journal of Botany 36: 1-11.

SAM, O., JERÉZ, E., DELL'AMICO, J. & RUIZ-SANCHEZ, M. 2000. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermes. *Biologia Plantarum* 43: 275-277.

SANKAR, B., KARTHISHWARAN, K. & SOMASUNDARAM, R. 2013. Leaf anatomical changes in peanut plants in relation to drought stress with or without paclobutrazol and abscisic acid. *Journal of Phytology* 5: 25-29.

SAVÉ, R., BIEL, C., DOMINGO, R., RUIZ-SÁNCHEZ, M. & TORRECILLAS, A. 1995. Some physiological and morphological characteristics of *Citrus* plants for drought resistance. *Plant Science* 110: 167-172.

SCATENA, V. & MENEZES, N. 1995. Aspectos morfológicos e anatômico do caule em especies de *Syngonanthus* R. Eriocaulaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 14: 91-107.

SCHULTZ, H. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behavior of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environment* 26: 1393-1405.

SCHULTZ, H. & MATTHEWS, M. 1993. Xylem development and hydraulic conductance in sun and shade shoots of grapevine (*Vitis vinifera* L.): evidence that light uncouples water transport capacity from leaf area. *Planta* 190: 393-406.

SCHULTZE-KRAFT, R. & BELALCAZAR, J. 1995. Una nueva variedad de *Centrosema macrocarpum* Benth. de los Andes colombianos. *Caldasia* 18: 45-48.

SCHULTZE-KRAFT, R., CLEMENTS, R. & KELLER-GREIN, G. 1997. *Centrosema*: Biología, Agronomía y Utilización. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 765 p.

SCHULTZE-KRAFT, R. 2003. *Centrosema pubescens* se llama ahora *Centrosema molle*. *Pasturas Tropicales* 2: 54-55.

SHERIFF, D. & LUDLOW, M. 1984. Physiological reactions to an imposed drought by *Macrotilium atropurpureum* and *Cenchrus ciliaris* in a mixed sward. Australian Journal of Plant Physiology 11: 23-34.

SHERIFF, D., FISHER, M., RUSITZKA, G. & FORD, C. 1986. Physiological reactions to an imposed drought by two twining pasture legumes: *Macroptilium atropurpureum* (Desiccation Sensitive) and *Galactia striata* (Desiccation Insensitive). Australian Journal of Plant Physiology 13: 431-445.

SHIELDS, L. 1951. The involution mechanism in leaves of certain xeric grasses. Phytomorphology. 225 p.

SILVA, H. & ACEVEDO, E. 1984. Adaptaciones anatomomorfológicas foliares al déficit hídrico en *Atriplex repanda* Phil. Revista Chilena de Historia Natural 57: 69-78.

SILVA, H., MARTINEZ, J., BAGINSKY, C. & PINTO, M. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. Revista Chilena de Historia Natural 72: 219-235.

SKERMAN, P., CAMERON, D. & RIVEROS, F. 1991. Leguminosas forrajeras tropicales. Colección Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO): Producción y protección vegetal N° 2. 707 p.

SPERRY, J., HACKE, U., OREN, R. & COMSTOCK, J. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. Plant, Cell and Environment 25: 251–263.

SRINIVASA, N. 1985. The effects of antitranspirants on leaf water status, stomatal resistance and yield in tomato. Journal of Horticultural Science 60: 89-92.

STEUDLE, E. 1995. Trees under tension. Nature 378: 663-664.

STOLF, R., MEDRI, M., PIMENTA, J., TORRES, M., DIAS, J., GIACOMINI, N., NEVES DE OLIVEIRA, M., BROGIN, R., YAMANAKA, N., NEUMAIER, N., BOUÇA, J. & NEPOMUCENO, A. 2009. Morpho-anatomical and

micromorphometrical evaluations in soybean genotypes during water stress. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal* 52: 1313-1331.

TABASSUM, M., ZHU, G., HAEZ, A., WAHID, M., SHABAN, M. & LI, Y. 2016. Influence of leaf vein density and thickness on hydraulic conductance and photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) during water stress. *Scientific Reports* 6, 36894; doi: 10.1038/srep36894

TAM, J. 2006. Respuestas ecofisiológicas de tres especies del género *Centrosema* a la sequía. Trabajo de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Venezuela. 57 p.

TARDIEU, F. & DAVIES, W. 1993. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant Cell Environment* 16: 341-349.

THITZ, P., POSSEN, B., OKSANEN, E., MEHTÄTALO, L., VIRJAMO, V. & VAPAAVUORI E. 2017. Production of glandular trichomes responds to water stress and temperature in silver birch (*Betula pendula* Roth) leaves. *Canadian Journal of Forest Research*; doi.org/10.1139/cjfr-2017-0036

TURNER, N. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil* 58: 339-366.

TYREE, M. & ZIMMERMANN, M. 2002. Xylem structure and the ascent of sap. Berlin, Germany. 286 p.

TYREE, M., DAVIS, S. & COCHARD, H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a trade off of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction?. *International Association of Wood Anatomists Journal* 15: 335-360.

VALLADARES, F., VILAGROSA, A., PEÑUELAS, J., OGAYA, R., CAMARERO, J., CORCUERA, L., SISÓ, S. & PELEGRÍN, E. 2004. Estrés hídrico: ecofisiología y

escalas de la sequía. In: Valladares, F. (eds.), Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid, España. pp: 163-190.

VÉLEZ, J., INTRIGLILOLO, D. & CASTEL, J. 2007. Scheduling deficit irrigation of *Citrus* trees with maximum daily trunk shrinkage. *Agricultural Water Management* 90: 197-204.

VÉLEZ, J., ÁLVAREZ-HERRERA, J. & ALVARADO-SANABRIA, O. 2012. El estrés hídrico en cítricos (*Citrus* spp.): una revisión. Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia. *Orinoquia* 2: 32-39.

WAGNER, G. 1991. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiology* 96: 675–679.

WHEELER, E. & BAAS, P. 1991. A survey of the fossil record for dicotyledonous wood and its significance for evolutionary and ecological wood anatomy. *The International Association of Wood Anatomists Bulletin* 12: 275-332.

WILSON, J., LUDLOW, M., FISHER, M. & SCHULZE, E. 1980. Adaptation to water stress of the leaf water relations of four tropical forage species. *Australian Journal of Plant Physiology* 7:207-220.

WILLIAMS, R. & CLEMENTS, R. 1997. Taxonomía de *Centrosema*. In: Schultze-Kraft, R., Clements, R. & Keller-Grein, G. (eds.). *Centrosema*: biología, agronomía y utilización. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 765 p.

WITCOMBE, J., HOLLINGTON, P., HOWARTH, C., READER, S. & STEELE, K. 2008. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science* 363: 703-716.

WULLSCHLEGER, S., TSCHAPLINSKI, T. & NORBY, R. 2002. Plant water relations at elevated CO₂ implications for water-limited environments. *Plant Cell Environment* 25: 319-331.

XU, Z. & ZHOU, G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany* 59: 3317-3325.

YENTÜR, S. 2003. Bitki Anatomisi. İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü. No: 227. İstanbul (in Turkish). 560 p.

YU, F. & BERG, V. 1994. Control of paraheliotropism in two *Phaseolus* species. *Plant Physiology* 106: 1567-1573.

ZIMMERMAN, J. 1990. Role of pseudobulbs in growth and flowering of *Catasetum viridiflavum* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 77: 533-542.

ZOTZ, G. & HIETZ, P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52: 2067-2078.